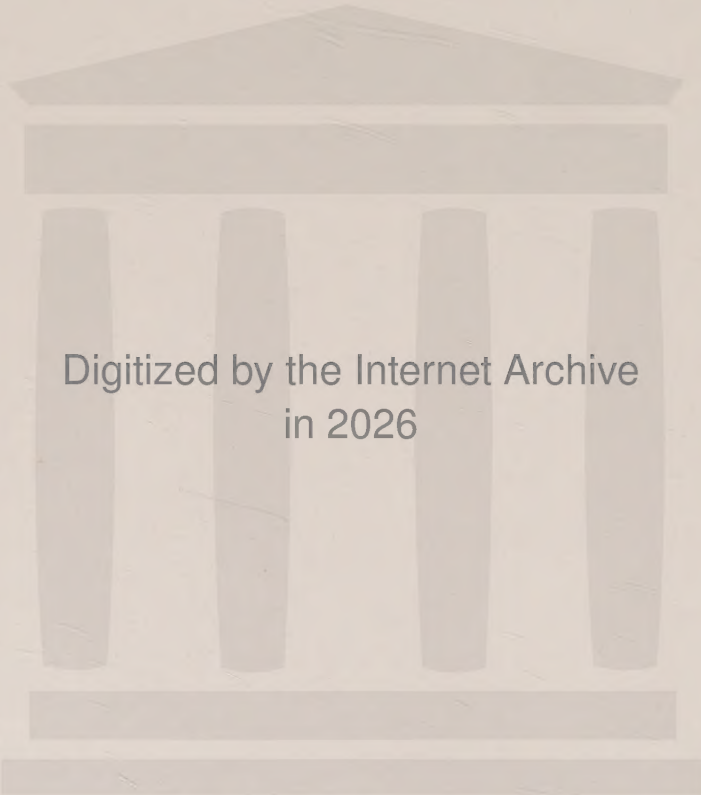


**BEDEUTUNG SCHILDDRÜSENSTIMULIERENDER UND
TSH BINDUNGSINHIBIERENDER IMMUNGLOBULINE
FÜR DIE VERLAUFSKONTROLLE
DES MORBUS BASEDOW**

BERNHARD SALLER

1987



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554824_0120

Aus der Medizinischen Klinik II im Klinikum Großhadern der

Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. G. Paumgartner

Bedeutung schilddrüsenstimulierender und TSH bindungs-
inhibierender Immunglobuline für die Verlaufskontrolle
des Morbus Basedow

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Bernhard Saller

aus

München

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. K. Mann
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. G. Paumgartner
	Prof. Dr. W. Forth
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	23.4.1987

Inhaltsverzeichnis

	Seite*
1. <u>Einleitung</u>	1
1.1. Der Morbus Basedow als Autoimmunerkrankung	1
1.2. Methoden zum Nachweis von Autoantikörpern gegen den TSH Rezeptor	1
1.3. Heterogenität der Autoantikörper gegen den TSH Rezeptor	3
1.4. Fragestellung	5
2. <u>Patienten und Methoden</u>	6
2.1. Patienten	6
2.2. Bestimmung von Autoantikörpern gegen den TSH Rezeptor	9
2.2.1. Bioassay zum Nachweis schilddrüsenstimulierender Antikörper (TSAb)	9
2.2.2. Radiorezeptorassay zum Nachweis TSH bindungs- inhibierender Immunglobuline (TBII)	13
2.3. Dosis-Wirkungsbeziehungen von TSAbs und TBII	14
2.4. Ausschluß unspezifischer Einflußfaktoren auf die Bestimmung von TSAbs und TBII	15
2.5. Statistische Auswertung	16
3. <u>Ergebnisse</u>	19
3.1. TSAbs und TBII bei Patienten mit unbehandeltem, aktiven M. Basedow	19
3.2. TSAbs und TBII Aktivitäten bei Patienten mit M. Basedow unter thyreostatischer Therapie	23
3.3. Einzelverläufe von TSAbs und TBII bei 25 Patienten mit M. Basedow unter thyreostatischer Therapie	26
3.4. Prognostische Aussagekraft von TSAbs und TBII	32

4.	<u>Diskussion</u>	39
4.1.	Methoden	39
4.2.	TSAb und TBII bei Patienten mit unbehandeltem, aktiven M. Basedow	45
4.3.	TSAb und TBII Aktivitäten bei Patienten mit M. Basedow unter thyreostatischer Therapie	48
4.4.	Prognostische Aussagekraft von TSAb und TBII	51
5.	<u>Zusammenfassung</u>	57
6.	<u>Literatur</u>	60
7.	<u>Anhang</u>	76
7.1.	Geräte	76
7.2.	Substanzen	76
7.3.	Lösungen	76
7.4.	Abkürzungen	78

1. Einleitung

1.1. Der Morbus Basedow als Autoimmunerkrankung

Die ersten klinischen Beschreibungen des Morbus Basedow stammen von Parry (103), Graves (54) und von Basedow (10) aus den Jahren 1825 bis 1840. Obwohl schon um die Jahrhundertwende eine Beteiligung des Immunsystems an dieser Erkrankung vermutet wurde (42), konnte dies erst in den letzten 30 Jahren eindeutig belegt werden. Adams und Purves (1) beschrieben 1956 eine schilddrüsen-stimulierende Aktivität im Serum von Patienten mit M. Basedow. Da dieser bisher unbekannte Faktor bei Versuchstieren zu einer gegenüber der TSH-Wirkung protrahierten Stimulation der ^{131}J -Sekretion durch die Schilddrüse führte, bürgerte sich in den folgenden Jahren die Bezeichnung "long-acting thyroid stimulator" (LATS) ein. 1958 beschrieb McKenzie (87) einen Mäuse-Bioassay zum Nachweis von LATS. Diese Methode beruht auf der in vivo Stimulierung der ^{131}J -Sekretion von Mäuseschilddrüsen. Mit ihr konnte LATS jedoch nur bei 30% bis 40% der Patienten mit unbehandeltem M. Basedow nachgewiesen werden (88). Einige Jahre später wurde gezeigt, daß das LATS-Molekül in der IgG Fraktion des Serums enthalten ist (74,92). Nachdem die Hashimoto-Thyreoiditis bereits einige Jahre vorher als Autoimmunerkrankung der Schilddrüse beschrieben worden war (112,115), formulierte man nun für den Morbus Basedow die Theorie, daß LATS ein gegen den TSH Rezeptor gerichteter Autoantikörper sei (11,129), welcher nach Bindung an den Rezeptor durch Aktivierung der Adenyl-Zyklase die Schilddrüsenhormonsynthese und -sekretion unkontrolliert stimuliert (17,38,78,90,107,124,135,157).

1.2. Methoden zum Nachweis von Autoantikörpern gegen den TSH Rezeptor

Auf dem Boden der oben dargestellten Erkenntnisse wurden eine Vielzahl von Nachweismethoden für TSH Rezeptorantikörper entwickelt. Diese beruhen im wesentlichen auf zwei Prinzipien:

1) Auf der funktionellen Stimulation der Schilddrüse durch Autoantikörper. Sie wird ermittelt durch Messung des Adenyl-Zyklase vermittelten Anstiegs von cyclic AMP in Schilddrüsenmembranpräparationen (14,63,101), Gewebepräparationen (21,63,89,100,159) bzw. isolierten Zellen (22,23,46,60,80,110,133, 143,149) oder durch Messung des Anstiegs der Schilddrüsenhormonfreisetzung (7,62,76,138). Für die mit diesen meist sehr aufwendigen Methoden erfaßten Antikörper bürgerte sich die Bezeichnung "thyroid stimulating antibodies (TSAb)" ein.

2) Auf dem Nachweis der TSH verdrängenden Aktivität dieser Antikörper am TSH Rezeptor. Sie wird durch den Radiorezeptorassay bestimmt, der auf der Hemmung der Bindung von ^{125}J -TSH an Schilddrüsenmembranen (47,83,93,121,128) bzw. gelösten Rezeptorpräparationen (73,127) beruht. Hierfür stehen seit kurzem auch kommerzielle Kits zur Verfügung (TRAK-Assay, Fa. Henning und Thybia-Assay, Fa. Mallinckrodt-Diagnostika). Die mit dieser Methode erfaßten Antikörper werden üblicherweise als "TSH binding inhibiting immunoglobulins (TBII)" bezeichnet.

Tab.1 gibt eine Übersicht über die zum Nachweis von Autoantikörpern beim M. Basedow verwendeten Methoden (17,106,107,125).

Methoden zur Erfassung der stimulierenden
Wirkung von Autoantikörpern

McKenzie Mäuse Bioassay (87,88)	LATS
Kolloidendozytose in humanen Thyreozyten (100)	} TSAb
Aktivierung d. Adenylatzyklase u. cAMP Bildung	
- in Schilddrüsenmembranpräparationen (14,63,101)	
- in Schilddrüsengebewepreparationen (21,63,89,100,159)	
- in isolierten Zellen (22,46,60,80,110,133,143)	
- in FRTL-5 Zellen (23,149)	
T3 Freisetzung (in vitro)	
- aus Schweineschilddrüsenewebe (7,62,76)	
- aus humanem Schilddrüsenewebe (62,138)	

Methoden zur Erfassung der TSH verdrängenden
Wirkung von Autoantikörpern am TSH Rezeptor

Verhinderung der Neutralisation von LATS durch humane Schilddrüsenpräparationen (2,3)	LATS-P
Inhibierung der 125J-TSH Bindung an Schilddrüsenmem- branen oder Rezeptorpräparationen (47,83,93,121,127,128)	TBII

Tab.1: Übersicht über die wichtigsten zum Nachweis von TSH
Rezeptorantikörpern beim M. Basedow verwendeten Methoden. Die
Nomenklatur wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit nach einem
Vorschlag von Pinchera et al. (107) vereinheitlicht und in der
vorliegenden Arbeit in dieser Weise verwendet.

1.3. Heterogenität der Autoantikörper gegen den TSH Rezeptor

Vergleiche der Aktivitäten von TSAb und TBII bei Patienten mit M.
Basedow führten zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen. Einige
Autoren konnten eine signifikante Korrelation beider Antikörper
beobachten (8,25,27,34,59). Im Gegensatz hierzu stehen
verschiedene Studien, die die völlige Unabhängigkeit von TSAb und

TBII belegen (57,75,79,136). Als Erklärung wurde die Existenz blockierender Antikörper postuliert (16,45), welche nicht in der Lage sind das cAMP-System zu stimulieren, durch ihre Bindung an den TSH Rezeptor jedoch im Radiorezeptorassay miterfaßt werden. Diese Theorie wurde neuerdings durch Studien mit monoklonalen Antikörpern gegen den TSH Rezeptor unterstützt, bei denen eine überwiegende Bindung eines Antikörpers an den Gangliosidanteil des TSH Rezeptors zur funktionellen Stimulation, eine überwiegende Bindung an den Glykoproteinanteil zur Bindung ohne Stimulation führte (71,148).

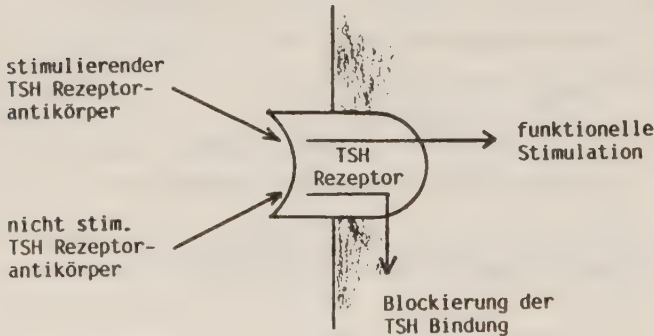


Abb.1: Unterschiedliche Wirkungen von Autoantikörpern am TSH Rezeptor (modifiziert nach (129)).

Aus diesen Ergebnissen wurde geschlossen, daß bei jedem Patienten mit M. Basedow ein individuelles Spektrum von Autoantikörpern mit teils stimulierenden, teils blockierenden Eigenschaften vorliegt (31). Diese Eigenschaften werden durch die zur Bestimmung der Autoantikörper verwendeten Methoden, welche einerseits auf der funktionellen Stimulation der Zelle, andererseits auf der Verdrängung von TSH am Rezeptor beruhen, in unterschiedlichem Maße erfaßt.

1.4. Fragestellung

Die Bedeutung der oben beschriebenen Heterogenität der Autoantikörper gegen den TSH Rezeptor in der klinischen Verlaufsbeurteilung eines Patienten mit M. Basedow und damit der Einfluß der zum Nachweis verwendeten Methode sind weiterhin unklar.

Die in diesem Zusammenhang zentrale Frage nach der prognostischen Aussagekraft dieser Autoantikörper hinsichtlich des weiteren Verlaufs der Erkrankung ist umstritten (36,39,98,123,141). Diese mag jedoch von der erfaßten Antikörperpopulation und damit von der zum Nachweis verwendeten Methode entscheidend beeinflußt werden.

Es war deshalb Ziel dieser Arbeit, die Bedeutung der Bestimmung von TSH Rezeptorantikörpern in der klinischen Verlaufsbeurteilung von Patienten mit M. Basedow in Abhängigkeit von der verwendeten Nachweismethode zu klären.

Dazu wurden bei Patienten mit M. Basedow Autoantikörper vor und unter thyreostatischer Therapie, sowie hinsichtlich ihrer prognostischen Aussagekraft bezüglich des weiteren Verlaufs der Erkrankung mit zwei verschiedenen Methoden:

- einem T3 Bioassay zur Ermittlung schilddrüsenstimulierender Antikörper (TSAb)
- einem Radiorezeptorassay zur Ermittlung TSH bindungs-inhibierender Immunglobuline (TBII) vergleichend bestimmt.

Es standen folgende Fragen im Mittelpunkt:

- Wie ist die Inzidenz von TSAb und TBII bei Patienten mit unbehandeltem, aktiven M. Basedow?
- Verhalten sich TSAb und TBII unter thyreostatischer Therapie eines M. Basedow gleichsinnig oder gibt es die Möglichkeit eines diskordanten Verhaltens?
- Hat die Bestimmung dieser Autoantikörper unter thyreostatischer Therapie eines M. Basedow prognostische Aussagekraft bezüglich dem weiteren Verlauf der Erkrankung und gibt es diesbezüglich Unterschiede zwischen TSAb und TBII?

2. Patienten und Methoden

2.1. Patienten

In die Studie aufgenommen wurden 94 Patienten (81 Frauen, 13 Männer) mit gesichertem M. Basedow vor und unter thyreostatischer Therapie, die sich in den Jahren 1982 bis 1986 in der endokrinologischen Ambulanz der Medizinischen Klinik II am Klinikum Großhadern vorstellten. Das Alter der Patienten betrug 17 bis 82 Jahre, im Mittel 47 ± 14 J. ($\bar{x} \pm SD$).

Zur Sicherung der Diagnose eines M. Basedow wurde bei allen Patienten durchgeführt (44):

- ausführliche Anamnese und körperliche Untersuchung
- Erfassung einer begleitenden endokrinen Orbitopathie und Klassifizierung der Augensymptomatik nach dem Vorschlag der American Thyroid Association (155)
- Abklärung der Schilddrüsenfunktion durch Bestimmung von:
 - Serungesamth thyroxin (T4 Enzym Immunoassay, Fa. Syva, Normbereich 4,5 - 10,5 µg/dl)
 - Serungesamttrijodthyronin (T3 ELISA, Fa. Boehringer Mannheim, Normbereich 1,0 - 2,3 ng/ml)
 - Thyroxin Bindungsindex als Parameter für den Anteil an freiem Thyroxin (TBI ELISA, Fa. Boehringer Mannheim, Normbereich 0,82 - 1,25)
 - TSH-Anstieg im i.v. TRH-Test (200 µg Protirelin, TSH-RIA, Fa. Henning Berlin, Normbereich (30 min.) 2 - 25 mU/l)
- Bestimmung von mikrosomalen (MAK, Thymune-M- Hämagglutinationstest, Fa. Wellcome Reagents Ltd., Normbereich <1:400) und Thyreoglobulinantikörpern (TAK, Thymune-T-Hämagglutinationstest, Fa. Wellcome Reagents Ltd., Normbereich <1:20)
- 99m-Technetium-Szintigraphie
- bei einem Teil der Patienten Durchführung einer Schilddrüsen-sonographie.

Die thyreostatische Therapie der Patienten wurde durch eine Gabe von 40-60 mg Methimazol/Tag bis zum Erreichen der Euthyreose eingeleitet. Bei Abfall der peripheren Hormonspiegel wurde auf

eine Erhaltungsdosis von 5-30 mg Methimazol/Tag reduziert. Diese Therapie wurde bei Absinken der Hormonwerte in den niedrignormalen Bereich mit einer Gabe von 25-50 µg/Tag L-Thyroxin kombiniert.

Von 94 Patienten hatten bei Erstvorstellung 65 (69%) erhöhte Titer für mikrosomale, 28 (30%) erhöhte Titer für Thyreoglobulinantikörper. 58 Patienten (62%) wiesen mindestens den Schweregrad III einer endokrinen Orbitopathie entsprechend der Klassifikation der American Thyroid Association (155) auf. Von den 36 Patienten ohne Augensymptomatik zeigten alle eindeutig erhöhte MAK-Titer, 17 zusätzlich erhöhte TAK-Titer (Tab.2).

EO +	n = 58		MAK + / TAK +	n = 10
			MAK + / TAK -	n = 19
			MAK - / TAK +	n = 1
			MAK - / TAK -	n = 28
EO -	n = 36		MAK + / TAK +	n = 17
			MAK + / TAK -	n = 19
			MAK - / TAK +	n = 0
			MAK - / TAK -	n = 0

Tab.2: Häufigkeit einer begleitenden endokrinen Orbitopathie (EO) und Inzidenz von mikrosomalen (MAK) und Thyreoglobulinantikörpern (TAK) bei 94 Patienten mit M. Basedow.

Insgesamt wurden von den untersuchten 94 Patienten 70 Serumproben vor und 211 Proben unter thyreostatischer Therapie gewonnen und auf ihre TSAb- und TBII-Aktivitäten hin untersucht. Tab.3 zeigt die Zahl der untersuchten Proben in Abhängigkeit der bisherigen Therapiedauer bei Probenentnahme.

Anzahl der Proben	
vor Therapiebeginn	n = 70
bis 1 Monat thyreostatische Therapie	n = 55
1 bis 3 Monate thyreostat. Therapie	n = 49
3 bis 6 Monate thyreostat. Therapie	n = 41
6 bis 9 Monate thyreostat. Therapie	n = 33
9 bis 12 Monate thyreostat. Therapie	n = 33
gesamt	n = 281

Tab.3: Untersuchte Serumproben von 94 Patienten in Abhängigkeit der bisherigen Dauer der thyreostatischen Therapie bei Probenentnahme. Von jedem Patienten wurde in den aufgeführten Zeitintervallen höchstens eine Serumprobe in die Studie aufgenommen.

Zur Beurteilung des Einzelverlaufs der Antikörperaktivitäten im individuellen Fall wurden 25 Patienten (22 Frauen, 3 Männer, Alter 24 bis 68 Jahre, im Mittel 47 ± 13 J. ($\bar{x} \pm SD$)) nach folgenden Kriterien ausgewählt:

- positive TSAb- und TBII-Aktivitäten vor Therapie
- einheitliche Therapiedauer von 12 Monaten
- gleiches Thyreostatikum in annähernd einheitlicher Dosierung (bis zum Erreichen der Euthyreose 40-60mg Methimazol/Tag, Erhaltungsdosis entsprechend der peripheren T3- und T4-Werte 10-30mg Methimazol/Tag, bei Absinken der T3- und T4-Spiegel in den niedrig normalen Bereich Zugabe von 50µg L-Thyroxin/Tag)
- regelmäßige klinische und laborchemische Überwachung im Abstand von 1-3 Monaten
- Nachbeobachtungszeit über mindestens 18 Monate nach Absetzen der thyreostatischen Therapie.

2.2. Bestimmung von Autoantikörpern gegen den TSH Rezeptor

2.2.1. Bioassay zum Nachweis schilddrüsenstimulierender Antikörper (TSAb)

Schilddrüsenstimulierende Antikörper wurden mit einem T3 Bioassay nach Atkinson und Kendall-Taylor (7) bestimmt. Dieser beruht auf der funktionellen Stimulation der Freisetzung von Trijodthyronin (T3) aus Schweineschilddrüsen Schnitten. Methodische Einzelheiten des verwendeten Assaysystems wurden kürzlich beschrieben (94).

Versuchsdurchführung

Tab.4 gibt einen kurzen Überblick über den Versuchsablauf.

Quader von Schweineschilddrüsen (0,5x1x1 mm)

Inkubation mit 100 µl Serum
(5 h, 37°C, 95% O₂/5% CO₂-Atmosphäre)

Gleichgewichtsdialyse (30°C, 24 h)

Bestimmung von fT3 im RIA

Tab.4: Übersicht über den Ablauf der Bestimmung von TSAbs.

Schweineschilddrüsen wurden im örtlichen Schlachthof spätestens 15 Minuten post mortem entnommen und sofort in kalten (4°C) Puffer nach Earles (mit 4,7 g/l HEPES, 1 g/l Glucose, 1 g/l Gelatine und 100 U/l Insulin, pH 7,4; siehe Anhang) überführt. In unserem Labor wurden mit Hilfe eines Mikrotoms und eines Schneideblocks (Rasierklagen im Abstand von 1 mm) Schilddrüsenquader der Größe 0,5 x 1 x 1 mm hergestellt.

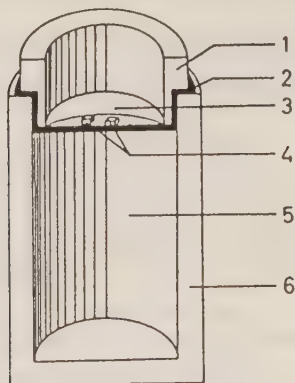
Das mittlere Feuchtgewicht der Quader betrug $565 \pm 67 \mu\text{g}$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$, n=100). Der mit der Diphenylaminmethode (modifiziert nach Burton (29)) bestimmte DNA Gehalt des Gewebes lag im Mittel bei 960 ± 72

ng/Quader ($\bar{x} \pm SD$, $n=100$). Feuchtgewicht und DNA Gehalt wurden an jeweils 100 repräsentativen Schilddrüsenquadern ermittelt.

Nach dem Schneiden wurden die Schilddrüsenquader für 30 min bei 4° C in modifiziertem Earles' Puffer (siehe Anhang) gewaschen.

Das zu testende Serum wurde zur Dekomplementierung und Hitzeinaktivierung des Thyroxin-bindenden Globulins (TBG) (132) für 40 min. auf 56°C erhitzt.

Je zwei Schilddrüsenquader wurden in ein Zwei-Kompartiment-Inkubationstöpfchen aus Teflon (Abb.2) überführt und mit jeweils 100 µl Serum bei einer Temperatur von 37 °C und einer Atmosphäre von 95% O₂ /5% CO₂ im feuchtigkeitsgesättigten Raum über 5 Stunden inkubiert.



- 1 : Teflonring
- 2 : Dialysemembran
- 3 : 100 µl Serum
- 4 : Schilddrüsenquader (0,5x1x1mm)
- 5 : 5 ml Puffer nach Earles
- 6 : Teflongefäß

Abb.2: Zwei-Kompartiment-Inkubationstöpfchen nach Atkinson und Kendall-Taylor (7).

Serum und Gewebe wurden durch eine Dialysemembran aus Cellulose (Nadir NG, Fa. Kalle, Wiesbaden, maximale Durchlässigkeit bei MG 10000 bis 15000, Ausschußgrenze MG 50000) vom unteren Teil des

Töpfchens getrennt, welcher 5 ml modifizierten Earles' Puffer mit HEPES (siehe Anhang) enthielt.

Nach Beendigung der Inkubationszeit wurden die Quader mit jeweils exakt 100 µl Puffer gewaschen und entnommen.

Nach einer 24 stündigen Gleichgewichtsdialyse (30°C, Schüttelbad (100/min)) wurde das freie T3 gemäß der Beschreibung von Ekins et al. (43) mittels Radioimmunoassay (RIA) in Aliquots von jeweils 300 µl des Dialysats bestimmt (Antikörper: lyophilisierter T3 Antikörper, Fa. Henning, Charge BE 81419, verdünnt in 1% RIA Puffer (siehe Anhang); Tracer: ^{125}J -T3 Konzentrat, Fa. Henning, spezifische Aktivität 75 Mbq/µg, mit 1% RIA Puffer verdünnt auf ca. 400000 cpm/ml; T3 Standards im Bereich von 8 ng/l bis 3000 ng/l). Die untere Nachweisgrenze (3-fache Standardabweichung des Nullwertes) des RIAs lag bei 2 ng/l, die Interassayvariabilität <5% beim 50%-Intercept.

Für jedes zu testende Serum wurden parallel 5 Töpfchen mit Gewebe sowie - zur Bestimmung des freien T3 im Serum - 3 Töpfchen ohne Gewebe inkubiert. In jedem Ansatz wurden zur Qualitätskontrolle eine Verdünnungsreihe von bovinem TSH (bTSH, 30 IU/mg, Präparation: Dr. Pierce, Los Angeles) in den Konzentrationen 0,1, 1,0, und 10 IU/l sowie eine Positivkontrolle (gepooltes Basedowserum mit hoher stimulierender Aktivität) mitgeführt.

Aus den fT3 Werten der Inkubation mit Gewebe (n=5) und der Inkubation ohne Gewebe (n=3) wurden für jede Probe die Mittelwerte berechnet. Die Differenz dieser Werte entsprach dem tatsächlich in 5 Stunden vom Gewebe freigesetzten Trijodthyronin.

Die Standardabweichung dieser Differenz (SD (ges)) setzt sich zusammen aus den Standardabweichungen der beiden Mittelwerte SD₁ und SD₂. Diese Gesamtstandardabweichung kann nach folgender Formel berechnet werden:

$$\text{SD (ges)} = (\text{SD}_1^2 + \text{SD}_2^2 - 1,5 \text{ SD}_1 \text{ SD}_2)^{1/2}$$

Um die Vergleichbarkeit der TSAb-Bestimmungen in verschiedenen Ansätzen zu verbessern, wurde für jedes Patientenserum eine auf eine Positivkontrolle (gepooltes Basedowserum mit hoher stimulierender Aktivität) bezogene TSAb-Aktivität berechnet:

$$\text{TSAb-Aktivität} = \frac{\text{T3 (Patientens Serum)} - \text{T3 (Neg.kontr.)}}{\text{T3 (Pos.kontr.)} - \text{T3 (Neg.kontr.)}} \times 100\%$$

Um als positiv eingestuft zu werden, mußte ein Serum die T3 Freisetzung über den 2 SD-Bereich der Negativkontrolle hinaus stimulieren bzw. eine TSAb-Aktivität größer 30% besitzen.

Legt man diese Grenze zugrunde, fanden wir in etwa 6% der Patienten ohne Autoimmunerkrankung der Schilddrüse positive Ergebnisse (ermittelt an 50 Patienten ohne Schilddrüsenerkrankung, mit euthyreoter, diffuser oder nodulärer Jodmangelstruma, mit uni- oder multifokaler Autonomie sowie mit Z.n. ablativer Therapie eines Schilddrüsenkarzinoms).

Präzision

Die Intraassaypräzision des TSAb Bioassays lag bei halbmaximaler Stimulation bei einem Variationskoeffizienten (VK) von 15% (n=5), die Interassaypräzision bei einem VK von 33% (n=15).

Zur Umgehung der hohen Interassayvariabilität wurden bei Untersuchungen des Titerverlaufs bei einem Patienten alle Seren gesammelt, bei -20°C gelagert und dann in einem Ansatz getestet.

Stimulation der T3 Freisetzung durch TSH

Die durch Zugabe eines Negativkontrollserums (gepooltes Serum von 50 schilddrüsengesunden Personen) ermittelte basale T3 Freisetzung betrug im Mittel 35 ± 4 ng/1.5h (n=5).

Bovines TSH (30 IU/mg) konnte ab einer Konzentration von 0,1 IU/l die T3 Freisetzung signifikant (> 2SD-Bereich der Negativkontrolle) stimulieren. Die maximale Stimulation der T3 Freisetzung durch bTSH konnte im Konzentrationsbereich zwischen 1 und 5 IU/l erreicht werden.

Die maximale T3 Freisetzung durch bTSH lag im Mittel $93 \pm 51\%$ (n=27) über basal.

Versuche wurden nur ausgewertet, wenn die T3-Freisetzung durch bTSH (1,0 IU/l) den 3SD-Bereich der Negativkontrolle überstieg.

2.2.2. Radiorezeptorassay zum Nachweis TSH bindungsinhibierender Immunglobuline (TBII)

Versuchsdurchführung

TBII wurde mit einem kommerziell erhältlichen Radiorezeptorassay (TRAK-Assay, Fa. Henning, Berlin) unter Verwendung solubilisierter TSH Rezeptoren aus Schweineschilddrüsen bestimmt (127).

Entsprechend der Arbeitsanleitung wurden Kontroll- bzw. Testseren (50 µl) bei Raumtemperatur (20°C) über 15 min. mit 50 µl TSH Rezeptorsuspension vorinkubiert und nach Zugabe von 100 µl ^{125}J -TSH weitere 60 min. bei 37°C inkubiert. Die Rezeptoren wurden anschließend mit Polyethylenglykol gefällt, abzentrifugiert (30 min, 2500g, 4°C) und die rezeptorgebundene Aktivität im Gammazähler gemessen. Die Ergebnisse wurden berechnet als:

$$\text{TBII-Aktivität} = 1 - \frac{\text{gebundenes } ^{125}\text{J (Patientens Serum)}}{\text{gebundenes } ^{125}\text{J (Negativkontrolle)}} \times 100\%$$

Ein Serum mit einer TBII-Aktivität >15% wurde als positiv eingestuft.

Bei dieser Normgrenze von 15% fanden wir in etwa 13% der Patienten ohne Autoimmunerkrankung der Schilddrüse positive Ergebnisse (ermittelt an 345 Patienten ohne Schilddrüsenerkrankung, mit euthyreoter, diffuser oder nodulärer Jodmangelstruma, mit uni- oder multifokaler Autonomie sowie mit Z.n. ablativer Therapie eines Schilddrüsenkarzinoms). Eine Anhebung der Grenze auf eine TBII-Aktivität von 20% oder 25% zeigte in unserem Patientenkollektiv nur eine geringe Steigerung der Spezifität bei einem hohen Verlust an Sensitivität. Aus diesem Grund wurde der vorliegenden Studie ein Grenzwert von 15% zugrunde gelegt.

Präzision

Die Intraassaypräzision des Radiorezeptorassays für TBII lag für ein positives Serum bei einem Variationskoeffizienten (VK) von 4% (n=5), für ein grenzwertiges Serum bei 25% (n=5). Für die

Interassayvariabilität ergab sich ein VK von 15% (n=7) für ein positives und von 61% (n=7) für ein grenzwertiges Serum.

Zur Umgehung der hohen Interassayvariabilität wurden bei Untersuchungen des Titerverlaufs bei einem Patienten wie für den TSAb Bioassay beschrieben alle Seren gesammelt, bei -20°C gelagert und dann in einem Ansatz getestet.

Verdrängende Aktivität von TSH

Bovines TSH (30 IU/mg) konnte ab einer Konzentration von 2 IU/l (verdünnt in gepooltem Normalserum) markiertes TSH signifikant vom TSH Rezeptor verdrängen. Eine TBII Aktivität >15% wurde im Mittel ab einer Konzentration von 8 IU/l bTSH erreicht.

2.3. Dosis-Wirkungsbeziehungen von TSAb und TBII

Bei Verdünnung eines TSAb und TBII positiven Serums mit gepooltem Normalserum zeigte sich eine dosisabhängige Stimulation der T3 Freisetzung (TSAb) bzw. dosisabhängige Verdrängung von ^{125}J -TSH vom Rezeptor (TBII). Beide Dosis-Wirkungskurven hatten einen parallelen Verlauf (Abb.3).

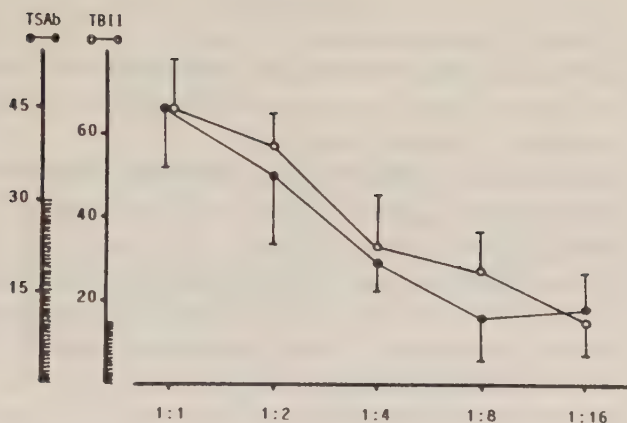


Abb.3: Dosiswirkungskurven eines TSAb und TBII positiven Serums im TSAb Bioassay und im TBII Radiorezeptorassay. Die Verdünnungsreihen wurden durch Zugabe von gepooltem Normalserum hergestellt.

2.4. Ausschluß unspezifischer Einflußfaktoren auf die Bestimmung von TSAb und TBII

Einfluß von endogenem TSH

Der Normbereich für basales TSH im Serum beträgt etwa 0,15 mU/l bis 4,0 mU/l (61). Diese Werte liegen deutlich unter der Nachweisgrenze für TSH sowohl im TSAb Bioassay als auch im TBII Radiorezeptorassay. Um einen Einfluß von endogenem TSH sicher auszuschließen, wurden 5 Seren von Patienten mit Z.n. ablativer Therapie eines Schilddrüsenkarzinoms, die vor einem Radiojodtest für 10 Tage ohne Hormonsubstitution waren, in beiden Assays gemessen. Die basalen TSH Serumspiegel dieser Patienten lagen zwischen 30 und 50 mU/l. In keinem Fall konnte ein von der Negativkontrolle signifikant abweichender Wert gefunden werden.

Einfluß von Methimazol

Derivate des Thioharnstoffes wie das Methimazol (1-Methyl-2-Mercaptoimidazol) hemmen die Synthese von Schilddrüsenhormonen über eine Inhibierung der Jodierung von Thyreoglobulin bzw. eine Behinderung der Bildung von Thyronin aus 2 Molekülen jodiertem Thyrosin (32).

Kürzlich konnte gezeigt werden, daß nach Einnahme von 60 mg Methimazol per os im Serum nach etwa 2 h Spitzenwerte bis zu 1,5 µg/ml Methimazol erreicht werden (33). Um einen Einfluß von Methimazol im Serum von Patienten unter thyreostatischer Therapie auf die Hormonfreisetzung im TSA_B Bioassay zu untersuchen, wurde geprüft, ob Methimazol im oben angegebenen Konzentrationsbereich die stimulierende Wirkung von TSH bzw. TSA_B beeinflusst. Es zeigte sich über den gesamten Konzentrationsbereich von 0 bis 1,5 µg/ml Methimazol keine signifikante Beeinflussung der T₃ Freisetzung.

2.5. Statistische Auswertung

Bei der statistischen Auswertung wurden Irrtumswahrscheinlichkeiten kleiner 5% ($p < 0,05$) als schwach signifikant, solche kleiner 1% ($p < 0,01$) als signifikant und solche kleiner 0,1% ($p < 0,001$) als hoch signifikant eingestuft.

Die Berechnung des arithmetischen Mittelwerts ($\bar{x}$), der Standardabweichung (SD) und des Variationskoeffizienten (VK) erfolgte entsprechend der Literatur (58,117).

Weiterhin wurden folgende statistische Testverfahren zur Auswertung herangezogen (58,117):

Spearmanscher Rangkorrelationskoeffizient

Zur Bestimmung der Korrelation zweier Variablen wurde, da in den untersuchten Grundgesamtheiten eine Normalverteilung nicht vorauszusetzen war, der Spearmansche Rangkorrelationskoeffizient r nach folgender Formel berechnet:

$$r = 1 - \frac{6 \cdot D^2}{n^3 - n}$$

Hierbei ist n die Anzahl der Wertepaare und D die Rangdifferenz des einzelnen Wertepaares.

Wilcoxon Test für unverbundene Stichproben

Zum Vergleich zweier Stichproben wurde, da auch hier die Verteilung der Daten unbekannt war, der Wilcoxon Test für unverbundene Stichproben angewandt. Die Testgröße errechnet sich nach folgender Formel:

$$U_{A,B} = R_{A,B} - \frac{n_{A,B} (n_{A,B} + 1)}{2}$$

Hierbei ist $n_{A,B}$ die Anzahl der Einzelwerte der Stichprobe A bzw. B, $R_{A,B}$ die Summe der Rangplätze der Stichprobe A bzw. B. Der kleinere der beiden Werte U_A, U_B bildet die Testgröße U .

Chi-Quadrat-Test (Vierfeldertest)

Zur Prüfung einer statistischen Abhängigkeit zwischen der Zugehörigkeit zu einer von 2 Stichproben und dem Eintreten eines von zwei qualitativen Werten (z.B. Rezidiv/Remission) wurde der Chi-Quadrat-Test (Vierfeldertest) angewandt. Die Testgröße wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\chi^2 = \frac{(a \cdot d - b \cdot c)^2 \cdot N}{(a+c) \cdot (b+d) \cdot (a+b) \cdot (c+d)}$$

Die Buchstaben a bis d entsprechen dabei den Feldern der Vierfeldertafel, N der Anzahl der Beobachtungen.

Sensitivität, Spezifität und prädiktiver Wert

Sensitivität, Spezifität und prädiktiver Wert der Bestimmung von TSAb bzw. TBII bei Therapieende bezüglich des weiteren Verlaufs der Erkrankung wurden nach folgenden Formeln berechnet:

$$\text{Sensitivität} = \frac{rp}{rp + fn} ; \quad \text{Spezifität} = \frac{rn}{rn + fp}$$

$$\text{präd. Wert (Rezidiv)} = \frac{rp}{rp + fp}$$

$$\text{präd. Wert (Remission)} = \frac{rn}{rn + fn}$$

Dabei entspricht:

rp: Antikörper positiv bei Therapieende / Rezidiv

fp: Antikörper positiv bei Therapieende / Remission

rn: Antikörper negativ bei Therapieende / Remission

fn: Antikörper negativ bei Therapieende / Rezidiv

3. Ergebnisse

3.1. TSAb und TBII bei Patienten mit unbehandeltem, aktiven M. Basedow.

In den Serumproben von 70 Patienten mit unbehandeltem, aktiven M. Basedow wurden die TSAb- und TBII-Aktivitäten bestimmt (58 Frauen, 12 Männer, Alter 17 bis 78 Jahre, im Mittel 46 ± 14 J. ($\bar{x} \pm SD$)). Alle Patienten hatten einen fehlenden Anstieg von TSH im TRH-Test (TSH $_{30\text{min}}$ $< 0,8$ mU/l). Die Werte für T3 und T4 im Serum lagen im Mittel bei $16,1 \pm 3,8$ bzw. $4,1 \pm 1,2$ ($\bar{x} \pm SD$, $n=70$). 41 Patienten (59%) litten unter einer begleitenden endokrinen Orbitopathie (mindestens Stadium III nach der American Thyroid Association).

Die Inzidenz von TSAb betrug 91%, die Inzidenz von TBII 90%. Bei allen Patienten war mindestens eine der beiden Antikörperaktivitäten erhöht (Tab.5). Mikrosomale und Thyreoglobulinantikörper konnten nur in einem signifikant geringerem Prozentsatz der Patienten nachgewiesen werden (MAK: 49/70 (70%), $p < 0,01$; TAK: 21/70 (30%), $p < 0,001$).

Die mittleren Antikörpertiter der 70 Patienten betrugen $64\% \pm 30\%$ (TSAb, $\bar{x} \pm SD$) bzw. $42\% \pm 22\%$ (TBII). Die Höhe der TSAb- und TBII-Aktivitäten korrelierte nicht ($r = 0,20$; $p = \text{n.s.}$; Abb.4).

Die Aktivitäten und die Inzidenzen von TSAb und TBII bei Patienten mit endokriner Orbitopathie (mindestens Stadium III) unterschieden sich nicht von denen bei Patienten ohne Augenbeteiligung (Tab.6). Auch zwischen Patienten mit und Patienten ohne signifikant erhöhten Titern für mikrosomale ($\geq 1:400$) und Thyreoglobulinantikörper ($\geq 1:20$) konnte kein Unterschied in der Höhe der TSAb- bzw. TBII-Aktivitäten und ihren Inzidenzen gefunden werden (Tab.7, 8).

Vergleicht man die TSAb- und TBII-Aktivitäten mit den peripheren Schilddrüsenhormonwerten, fand sich für TSAb, nicht für TBII eine schwach signifikante Korrelation ($p < 0,05$) zu den T3- und T4-Spiegeln (Tab.9).

	TSAb pos	TSAb neg	gesamt
TBII pos	57 (81%)	6 (9%)	63 (90%)
TBII neg	7 (10%)	0 (0%)	7 (10%)
gesamt	64 (91%)	6 (9%)	70 (100%)

Tab.5: Inzidenz von TSAb und TBII bei 70 Patienten mit unbehandeltem M. Basedow.

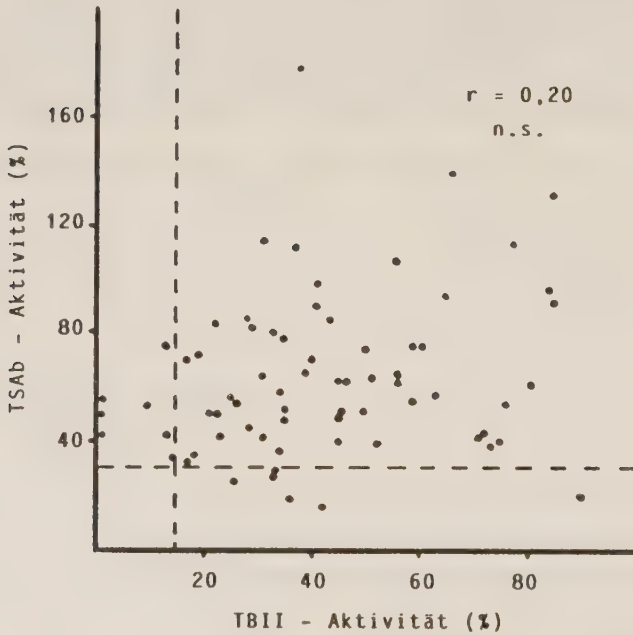


Abb.4: Verteilung der TSAb- und TBII-Aktivitäten bei 70 Patienten mit unbehandeltem M. Basedow.

	begleitende Orbitopathie		p
	ja	nein	
n	41 (59%)	29 (41%)	
TSAb-Aktivität ($\bar{x} \pm SD$)	67% $\pm$ 29%	61% $\pm$ 31%	n.s.
TBII-Aktivität ($\bar{x} \pm SD$)	43% $\pm$ 24%	40% $\pm$ 20%	n.s.
TSAb-Inzidenz	37/41 (90%)	27/29 (93%)	n.s.
TBII-Inzidenz	36/41 (88%)	27/29 (93%)	n.s.

Tab.6: Vergleich der Aktivitäten und Inzidenzen von TSAb bzw. TBII bei 70 Patienten mit unbehandeltem M. Basedow mit und ohne begleitende endokrine Orbitopathie.

	mikrosomale Antikörper		p
	$\geq 1:400$	$< 1:400$	
n	49 (70%)	21 (30%)	
TSAb-Aktivität ($\bar{x} \pm SD$)	63% $\pm$ 30%	66% $\pm$ 29%	n.s.
TBII-Aktivität ($\bar{x} \pm SD$)	42% $\pm$ 22%	42% $\pm$ 23%	n.s.
TSAb-Inzidenz	44/49 (90%)	20/21 (95%)	n.s.
TBII-Inzidenz	44/49 (90%)	19/21 (90%)	n.s.

Tab.7: Vergleich der Aktivitäten und Inzidenzen von TSAb bzw. TBII bei 70 Patienten mit unbehandeltem M. Basedow mit (Titer $\geq 1:400$) und ohne erhöhte Titer für mikrosomale Antikörper.

	Thyreoglobulinantikörper		p
	$\geq 1:20$	$< 1:20$	
n	21 (30%)	49 (70%)	
TSAb-Aktivität ($\bar{x} \pm SD$)	56% $\pm$ 24%	68% $\pm$ 32%	n.s.
TBII-Aktivität ($\bar{x} \pm SD$)	42% $\pm$ 22%	42% $\pm$ 22%	n.s.
TSAb-Inzidenz	21/21 (100%)	42/49 (86%)	n.s.
TBII-Inzidenz	21/21 (100%)	41/49 (84%)	n.s.

Tab.8: Vergleich der Aktivitäten und Inzidenzen von TSAb bzw. TBII bei 70 Patienten mit unbehandeltem M. Basedow mit (Titer $\geq 1:20$) und ohne erhöhte Titer für Thyreoglobulinantikörper.

	TSAb/T3	TSAb/T4	TBII/T3	TBII/T4
r =	0,25	0,28	0,20	0,04
p	<0,05	<0,05	n.s.	n.s.

Tab.9: Korrelation von TSAb und TBII mit den peripheren Schilddrüsenhormonwerten bei 70 Patienten mit unbehandeltem M. Basedow.

3.2. TSAb und TBII bei Patienten mit M. Basedow unter thyreostatischer Therapie.

71 Patienten mit M. Basedow unter thyreostatischer Therapie wurden untersucht (61 Frauen, 10 Männer, Alter 17 bis 82 Jahre, im Mittel 47 ± 14 J. ($\bar{x} \pm SD$)). Von diesen Patienten konnten 211 Serumproben gewonnen und nach der bisherigen Dauer der Therapie bei Probenentnahme den folgenden Gruppen zugeteilt werden:

- I. Therapiedauer bis 1 Monat (n = 55)
- II. Therapiedauer 1 bis 3 Monate (n = 49)
- III. Therapiedauer 3 bis 6 Monate (n = 41)
- IV. Therapiedauer 6 bis 9 Monate (n = 33)
- V. Therapiedauer 9 bis 12 Monate (n = 33)

In jeder Gruppe wurde von einem Patienten höchstens eine Serumprobe untersucht.

Die Verteilung der TSAb- und TBII-Aktivitäten in diesen Seren zeigen Abb.5 und 6. Es fand sich eine kontinuierliche Abnahme der Inzidenz positiver TSAb- bzw. TBII-Aktivitäten und der mittleren Titerhöhe unter thyreostatischer Therapie (Tab.10).

Dabei fielen die TSAb-Aktivitäten im Vergleich zu den TBII-Titern deutlich früher ab. Die mittlere TSAb-Aktivität der Patienten mit einer bisherigen Therapiedauer bis 1 Monat (Gruppe I) unterschied sich bereits hochsignifikant von den TSAb-Werten der Patienten vor Therapie ($38\% \pm 19\%$ vs. $64\% \pm 30\%$, $p < 0,001$). TBII erreichte einen Unterschied dieses Signifikanzniveaus zu den Ausgangstitern im Mittel erst nach 3 bis 6 Monaten Therapie (Gruppe III) ($28\% \pm 20\%$ vs. $42\% \pm 22\%$, $p < 0,001$).

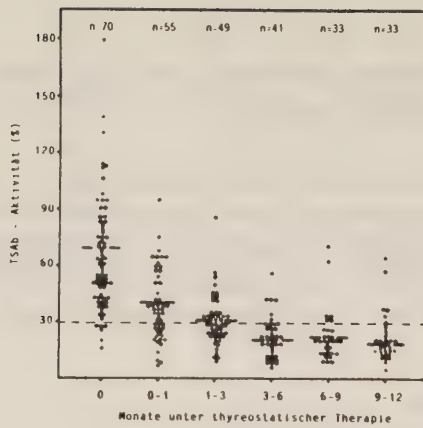


Abb.5: Verteilung der TSAb-Aktivitäten in Seren (n=281) von Patienten mit M. Basedow vor und unter thyreostatischer Therapie.

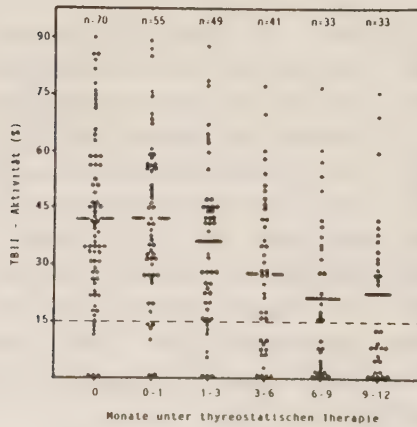


Abb.6: Verteilung der TBII-Aktivitäten in Seren (n=281) von Patienten mit M. Basedow vor und unter thyreostatischer Therapie.

Therapiedauer	n	TSAb-Akt. ($\bar{x} \pm SD$)	TBII-Akt. ($\bar{x} \pm SD$)	Inzidenz	
				TSAb	TBII
vor Therapie	70	64% $\pm$ 30%	42% $\pm$ 22%	91%	90%
bis 1 Monat	55	38% $\pm$ 19%	42% $\pm$ 21%	62%	81%
1 bis 3 Mon.	49	30% $\pm$ 14%	35% $\pm$ 21%	45%	84%
3 bis 6 Mon.	41	21% $\pm$ 12%	28% $\pm$ 20%	12%	71%
6 bis 9 Mon.	33	22% $\pm$ 13%	22% $\pm$ 21%	18%	58%
9 bis 12 Mon.	33	21% $\pm$ 13%	21% $\pm$ 21%	15%	45%

Tab.10: Mittlere TSAb- und TBII-Aktivitäten sowie Inzidenz positiver Titer für TSAb und TBII bei Patienten mit M. Basedow vor und unter thyreostatischer Therapie.

3.3. Einzelverläufe von TSAb und TBII bei 25 Patienten mit M. Basedow unter thyreostatischer Therapie

Der in 3.2. beschriebene Abfall der mittleren TSAb- und TBII-Aktivitäten wurde in Einzelverläufen von 25 ausgewählten Patienten (22 Frauen, 3 Männer, Alter 24 bis 68 Jahre, im Mittel 47 ± 13 J. ($\bar{x} \pm SD$), Auswahlkriterien siehe 2.1.) näher untersucht.

17 Patienten (70%) litten unter einer endokrinen Orbitopathie, 18 (72%) hatten vor Therapiebeginn erhöhte Titer für mikrosomale, 10 (40%) erhöhte Titer für Thyreoglobulinantikörper.

Auch in dieser Patientengruppe konnte vor Therapie keine Korrelation zwischen TSAb- und TBII-Aktivitäten gefunden werden ($r = 0,39$; n.s.).

Den Verlauf der TSAb- und TBII-Aktivitäten unter thyreostatischer Therapie zeigen die Abb.7 und 8.

TSAb fiel während der 12 monatigen Behandlung in 20 von 25 Patienten innerhalb von 1 bis 7 Monaten (im Mittel 2,5 Monate) in den Normbereich ab. Bei 5 Patienten war TSAb nach dieser Zeit noch signifikant erhöht. TBII normalisierte sich in diesem Zeitraum in 14 von 25 Patienten innerhalb von 1 bis 11 Monaten (im Mittel 4,9 Monate) und persistierte in 11 Fällen.

Patienten mit über 12 Monate persistierenden Titern für TSAb zeigten vor Therapie eine mittlere TSAb-Aktivität von $75\% \pm 24\%$ ($\bar{x} \pm SD$, $n=5$) und unterschieden sich damit nicht signifikant von den Patienten, deren TSAb-Aktivitäten während der Therapie in den Normbereich abfielen ($60\% \pm 23\%$, $n=20$; $p=n.s.$).

Auch Patienten mit persistierenden und nicht persistierenden Titern für TBII waren bezüglich ihrer TBII-Aktivitäten vor Therapie vergleichbar ($52\% \pm 19\%$, $n=11$ vs. $45\% \pm 19\%$, $n=14$; $p=n.s.$).

In diesen Einzelverläufen von 25 Patienten konnte somit der in 3.2. beobachtete raschere Abfall der TSAb-Titer im Vergleich zu den TBII-Titern unter thyreostatischer Therapie bestätigt werden. Ebenfalls übereinstimmend war die höhere Inzidenz von TBII nach 12 Monaten thyreostatischer Therapie (TBII 44%, TSAb 20%, $n=25$).

In 14 der 25 Fälle fielen die Titer beider Antikörper parallel in den Normbereich ab, in 5 Fällen blieb sowohl TSAb als auch TBII nach 12 Monaten signifikant erhöht.

Bei 6 Patienten war jedoch eine diskordante Entwicklung beider Antikörperaktivitäten d.h. ein Persistieren von TBII trotz des Abfalls von TSAb in den Normbereich zu beobachten. Ein Persistieren von TSAb bei einem Abfall von TBII in den Normbereich konnten wir bei keinem unserer Patienten beobachten.

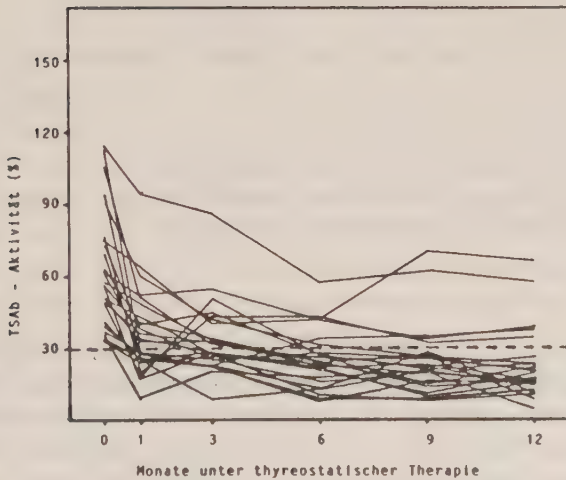


Abb.7: Verlauf der TSAb-Aktivitäten von 25 Patienten mit M. Basedow unter thyreostatischer Therapie.

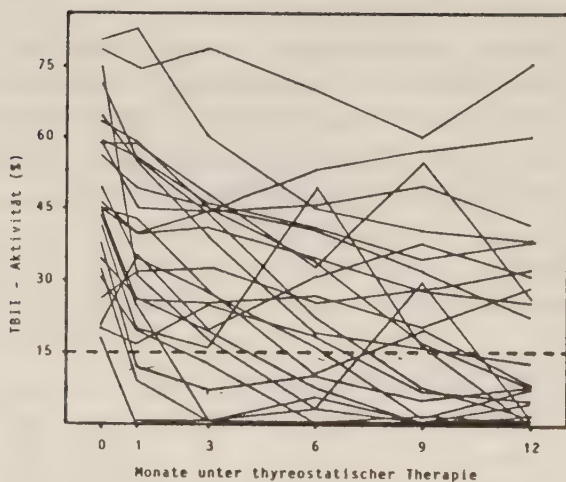


Abb.8: Verlauf der TBII-Aktivitäten von 25 Patienten mit M. Basedow unter thyreostatischer Therapie.

Betrachtet man den prozentualen Abfall der Antikörperaktivitäten unter Therapie gemessen an den Ausgangswerten vor Therapie, zeigten auch Patienten mit positiven Titern bei Therapieende einen Rückgang der mittleren Aktivitäten von TSAb und TBII. Dieser war jedoch deutlich geringer als in der Gruppe mit negativen Titern bei Therapieende (Tab.11).

Außerdem ist der prozentuale Abfall der TSAb-Aktivitäten in der Gruppe mit gleichzeitigem Abfall von TBII (TSAb neg, TBII neg) und in der Gruppe mit persistierendem TBII (TSAb neg, TBII pos) vergleichbar (Tab.11).

Antikörpertiter bei Therapieende	n	Aktivität bei Therapieende Aktivität vor Therapie (%)	
		TSAb	TBII
TSAb pos, TBII pos	5	64% $\pm$ 18%	97% $\pm$ 37%
TSAb neg, TBII pos	6	25% $\pm$ 11%	66% $\pm$ 29%
TSAb neg, TBII neg	14	32% $\pm$ 12%	11% $\pm$ 10%

Tab.11: Verhältnis zwischen den Antikörperaktivitäten am Ende der Therapie und den Ausgangstitern vor Therapie bei 25 Patienten mit M. Basedow.

Stellt man das Verhältnis der TBII- und TSAb-Aktivitäten (TBII/TSAb Quotient = dimensionsloser Faktor F) in den Gruppen mit konkordantem (TSAb und TBII fallen beide in den Normbereich ab oder persistieren, n=19) und diskordantem Verlauf (TSAb fällt in den Normbereich ab, TBII persistiert, n=6) gegenüber, zeigen sich vor Therapie vergleichbare Werte in beiden Gruppen. Unter Therapie kommt es in der Gruppe mit diskordantem Verlauf zu einer Verschiebung des Verhältnisses zu Gunsten der TBII-Aktivitäten, während sich in der Gruppe mit konkordantem Verlauf der TBII/TSAb Quotient nicht signifikant ändert (Abb.9).

Abb.10 zeigt repräsentative Beispiele für einen konkordanten und einen diskordanten Verlauf von TSAb und TBII unter thyreostatischer Therapie.

Um in diesem Zusammenhang methodische Einflüsse wie eine unterschiedliche Dosiswirkungsbeziehung von TSAb und TBII sicher auszuschließen, wurden Seren von Patienten unter thyreostatischer Therapie in Verdünnungen von 6 bis 100 μ l (jeweils verdünnt in gepooltem Normalserum) getestet (Abb.11). Dabei konnte die Möglichkeit einer diskordanten Entwicklung von TSAb und TBII unter thyreostatischer Therapie ebenfalls eindeutig dokumentiert werden.

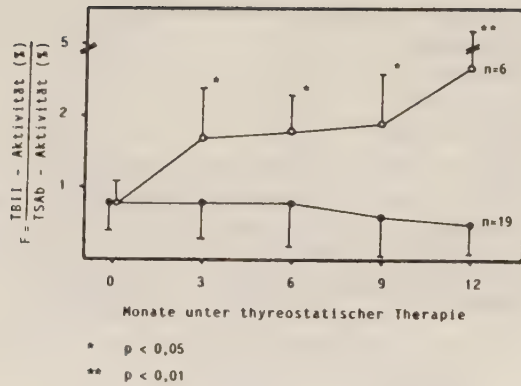


Abb.9: Entwicklung des Verhältnisses von TBII zu TSAb (TSAb/TBII Quotient = dimensionsloser Faktor F) unter thyreostatischer Therapie bei Patienten mit konkordantem (●-●, n=19) und diskordantem (○-○, n=6) Verlauf beider Antikörperaktivitäten. In der Gruppe mit diskordantem Verlauf von TSAb und TBII (○-○) zeigt sich eine Verschiebung des Verhältnisses zu Gunsten von TBII im Verlauf der thyreostatischen Therapie.

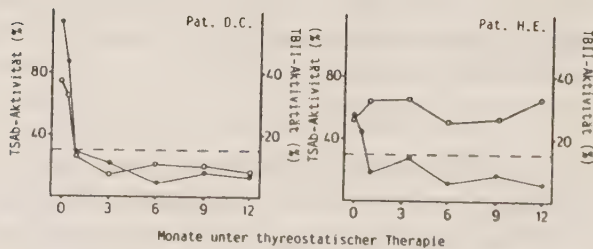


Abb.10: Repräsentative Beispiele für einen konkordanten (Patient D.C.) und einen diskordanten (Patient H.E.) Verlauf von TSAb (●-●) und TBII (○-○) unter thyreostatischer Therapie.

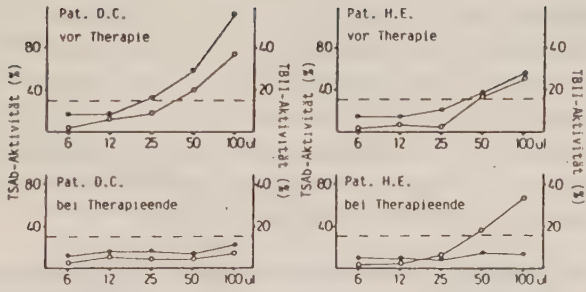


Abb.11: Dosiswirkungskurven von TSAb (●-●) und TBII (o-o) bei zwei Patienten mit konkordantem (Patient D.C.) und diskordantem (Patient H.E.) Verlauf beider Antikörperaktivitäten.

3.4. Prognostische Aussagekraft von TSAb und TBII

Die 25 ausgewählten Patienten, deren Antikörpertiter während einer 12 monatigen thyreostatischen Therapie engmaschig kontrolliert worden waren, konnten auch nach Absetzen der Thyreostatika über 18 Monate hinsichtlich des weiteren Verlaufs der Erkrankung beobachtet werden.

Während dieses Zeitraums erlitten innerhalb von 1 bis 15 Monaten (im Mittel 4,9 Monate) 13 von 25 Patienten (52%) ein Hyperthyreoserezidiv. Dieses Rezidiv war in jedem Fall mit einem Wiederanstieg der Antikörpertiter von TSAb und TBII verbunden. Die anderen 12 Patienten (48%) blieben während des gesamten Zeitraums ohne thyreostatische Medikation euthyreot.

Vergleicht man Remissions- und Rezidivgruppe hinsichtlich Alter der Patienten, Vorhandensein einer begleitenden endokrinen Orbitopathie, erhöhter Titer für mikrosomale oder Thyreoglobulinantikörper vor Therapiebeginn, unterscheiden sich beide Gruppen in keinem Punkt signifikant (Tab.12).

Auch die mittleren peripheren Schilddrüsenhormonspiegel vor Therapiebeginn waren in Remissions- und Rezidivgruppe vergleichbar (T3: Remissionsgruppe $3,7 \pm 0,8$ ng/ml, Rezidivgruppe $4,2 \pm 0,8$ ng/ml; T4: Remissionsgruppe $15,8 \pm 2,9$ µg/dl, Rezidivgruppe $15,2 \pm 3,1$ µg/dl).

Die mittlere Methimazolerhaltungsdosis nach Erreichen der Euthyreose lag in der Rezidivgruppe mit 18 ± 10 mg Methimazol/Tag etwas, jedoch nicht signifikant über der Erhaltungsdosis in der Remissionsgruppe (12 ± 5 mg/Tag).

	Remission (n=12)	Rezidiv (n=13)
mittleres Alter	48 ± 12 J.	47 ± 14 J.
begleitende endokrine Orbitopathie	9/12 (75%)	8/13 (62%)
erhöhte Titer für mikrosomale Antikörper	9/12 (75%)	9/13 (69%)
erhöhte Titer für Thyreoglobulinantikörper	4/12 (33%)	6/13 (46%)

Tab.12: Vergleich der Remissions- und Rezidivgruppe hinsichtlich Alter der Patienten, begleitender endokriner Orbitopathie und vor Therapie erhöhter Titer für mikrosomale und Thyreoglobulinantikörper.

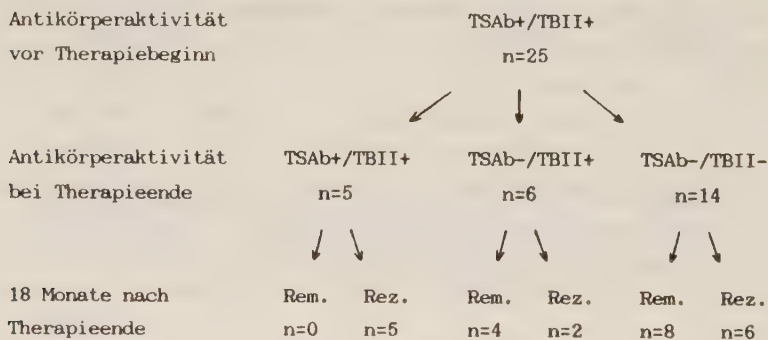
Entsprechend ihrer TSAb- und TBII-Aktivitäten am Ende der zwölfmonatigen thyreostatischen Therapie lassen sich die 25 Patienten in 3 Gruppen einteilen:

I	TSAb pos, TBII pos	(n = 5)
II	TSAb neg, TBII pos	(n = 6)
III	TSAb neg, TBII neg	(n = 14)

Alle 5 Patienten der Gruppe I, 2 Patienten der Gruppe II und 6 Patienten der Gruppe III erlitten während der Nachbeobachtungszeit ein Hyperthyreosereizidiv (Tab.13).

Die Inzidenz von TSAb und TBII bei Therapieende betrug in der Remissionsgruppe 0/12 (0%) bzw. 4/12 (33%), in der Rezidivgruppe 5/5 (100%) bzw. 7/13 (54%). Im Chi-Quadrat Test zeigte sich ein schwach signifikanter Zusammenhang zwischen Rezidiv / Remission und positiven / negativen TSAb-Werten bei Therapieende ($p < 0,05$). Für TBII konnte ein solcher Zusammenhang nicht gefunden werden (Tab.14).

In Tab. 15 werden die Sensitivität, die Spezifität sowie der prädiktive Wert der Bestimmung von TSAb und TBII am Ende einer 12 monatigen thyreostatischen Therapie zur Erfassung eines Hyperthyreoserezidivs bzw. einer Remission der Erkrankung gegenübergestellt. Da die mit der Bestimmung von TSAb erfaßten Rezidive, wenn auch mit geringerer Spezifität, durch die Bestimmung von TBII miterfaßt werden, besitzt die Kombination beider Parameter keine zusätzliche Aussagekraft.



Tab.13: Prognostische Aussagekraft der Bestimmung von TSAb und TBII am Ende einer 12 monatigen thyreostatischen Therapie hinsichtlich Remission (Rem.) oder Rezidiv (Rez.) einer Basedow-Hyperthyreose.

	n	TSAb		TBII	
		pos	neg	pos	neg
Remission	12	0	12	4	8
Rezidiv	13	5	8	7	6
gesamt	25	5	20	11	14

Tab.14: Inzidenzen von TSAb und TBII am Ende einer 12 monatigen thyreostatischen Therapie in den Gruppen mit anschließender Remission bzw. Rezidiv der Erkrankung.

	TSAb	TBII
Sensitivität	38%	54%
Spezifität	100%	67%
prädikt. Wert (Rezidiv)	100%	64%
prädikt. Wert (Remission)	60%	57%

Tab.15: Vergleich von Sensitivität, Spezifität und prädiktivem Wert der Bestimmung von TSAb und TBII am Ende einer thyreostatischen Therapie hinsichtlich Remission oder Rezidiv einer Basedow-Hyperthyreose.

Der Vergleich der mittleren Antikörperaktivitäten in der Remissions- bzw. Rezidivgruppe vor und unter thyreostatischer Therapie ist in Tab.16 zusammengestellt. Nach 12 Monaten thyreostatischer Therapie zeigten sich in der Rezidivgruppe schwach signifikant ($p < 0,05$) höhere TSAb-, nicht TBII-Aktivitäten.

Der prozentuale Abfall der Antikörperaktivitäten unter Therapie bezogen auf die Ausgangstitel vor Therapiebeginn war nach 12 Monaten für beide Antikörper in der Rezidivgruppe schwach signifikant geringer als in der Remissionsgruppe ($p < 0,05$) (Tab.17).

Weiterhin konnte in dieser Patientengruppe untersucht werden, ob das Verhältnis zwischen TBII- und TSAb-Aktivitäten, z.B. ein hoher Anteil stimulierender Antikörper, prognostische Aussagekraft besitzt. Tab.18 stellt die mittleren TBII/TSAb Quotienten vor bzw. nach 3 und 12 Monaten thyreostatischer Therapie in der Remissions- und in der Rezidivgruppe gegenüber. Es konnte damit kein signifikanter Unterschied zwischen Remissions- und Rezidivgruppe gefunden werden.

Therapiedauer		Remission (n=12)	Rezidiv (n=13)	p
vor Ther.	TSAb	58%±19%	67%±27%	n.s.
	TBII	49%±18%	47%±19%	n.s.
3 Monate	TSAb	30%±7%	38%±18%	n.s.
	TBII	28%±16%	35%±20%	n.s.
6 Monate	TSAb	20%±7%	28%±15%	n.s.
	TBII	21%±19%	30%±20%	n.s.
12 Monate	TSAb	16%±5%	28%±17%	<0,05
	TBII	13%±15%	25%±23%	n.s.

Tab.16: Vergleich der TSAb- bzw. TBII-Aktivitäten vor und unter thyreostatischer Therapie bei Patienten mit anschließender Remission (n=12) und Rezidiv (n=13) einer Basedow-Hyperthyreose.

	Remission (n=12)	Rezidiv (n=13)	p
TSAb-Akt. nach 3 Mon.			
TSAb-Akt. vor Therapie	53%±11%	60%±22%	n.s.
TSAb-Akt. nach 12 Mon.			
TSAb-Akt. vor Therapie	29%±11%	44%±22%	<0,05
TBII-Akt. nach 3 Mon.			
TBII-Akt. vor Therapie	58%±31%	71%±34%	n.s.
TBII-Akt. nach 12 Mon.			
TBII-Akt. vor Therapie	24%±26%	57%±49%	<0,05

Tab.17: Relative Abnahme der TSAb- und TBII-Aktivität bezogen auf die Aktivität vor Therapie nach 3 und 12 Monaten thyreostatischer Therapie.

	Remission (n=12)	Rezidiv (n=13)	p
TBII/TSAb vor Therapie	0,91±0,40	0,77±0,41	n.s.
TBII/TSAb nach 3 Monaten	1,00±0,62	0,95±0,52	n.s.
TBII/TSAb nach 12 Monaten	1,02±0,71	0,84±0,68	n.s.

Tab.18: Gegenüberstellung der mittleren TBII/TSAb Quotienten in Remissions- und Rezidivgruppe vor und nach 3 und 12 Monaten thyreostatischer Therapie.

Vergleicht man in der Rezidivgruppe (n=13) bei den Patienten mit positiven und negativen Titern für TSAb (n=5) bzw. TBII (n=7) bei Therapieende die Zeitdauer bis zum Auftreten eines Rezidivs nach Absetzen der thyreostatischen Medikation, so zeigt sich, daß sowohl ein Persistieren von TSAb ($p<0,001$) als auch ein Persistieren von TBII ($p<0,05$) mit einem signifikant früheren Eintreten des Rezidivs verbunden war (Tab.19).

Antikörperaktivität bei Therapieende	n	Rezidiv nach ($\bar{x} \pm SD$)	
TSAb positiv	5	1 $\pm$ 0 Monaten	p<0,001
TSAb negativ	8	10 $\pm$ 6 Monaten	
TBII positiv	7	3 $\pm$ 3 Monaten	p<0,05
TBII negativ	6	7 $\pm$ 5 Monaten	

Tab.19: Zusammenhang zwischen den Antikörpertitern bei Therapieende und dem Zeitpunkt des Eintritts eines Rezidivs in der Rezidivgruppe (n=13).

4. Diskussion

Die Bedeutung von Autoantikörpern gegen den TSH Rezeptor in der Pathogenese des M. Basedow ist unumstritten. Kürzlich konnte gezeigt werden, daß diese Antikörper eine funktionell heterogene Gruppe mit teilweise stimulierenden, teilweise blockierenden Wirkungen am TSH Rezeptor darstellen (31,147,160). Diese Eigenschaften werden durch die zur Bestimmung der Autoantikörper verwendeten Methoden in unterschiedlichem Maße erfaßt.

In der vorliegenden Arbeit wurden mit zwei verschiedenen Methoden die schilddrüsenstimulierende und die TSH bindungsinhibierende Aktivität von Autoantikörpern beim M. Basedow vergleichend bestimmt. Dabei sollte die Bedeutung der Bestimmung von Autoantikörpern in der Verlaufskontrolle des M. Basedow in Abhängigkeit von der verwendeten Nachweismethode geklärt werden.

4.1. Methoden

Bioassay zum Nachweis schilddrüsenstimulierender Antikörper (TSAb)

Die Schlüsselrolle von Autoantikörpern in der Pathogenese der Hyperthyreose beim M. Basedow ist deren Eigenschaft, die Schilddrüsenhormonsynthese und -sekretion unkontrolliert zu stimulieren (38,78,107,124,135).

Der Nachweis dieser stimulierenden Wirkung erfolgt heute im wesentlichen mit zwei Methoden:

- 1) Mit der Bestimmung der Stimulation der Schilddrüsenhormonfreisetzung in vitro durch Immunglobuline von Patienten mit M. Basedow. Atkinson und Kendall-Taylor beschrieben 1981 die Stimulation der T3 Freisetzung aus Schweineschilddrüsenschnitten durch unextrahiertes Serum von Patienten mit M. Basedow (7). Eine Modifizierung dieser Methode wurde in der vorliegenden Arbeit zur Bestimmung schilddrüsenstimulierender Antikörper verwendet

(eingehende Beschreibung und Diskussion der verwendeten Methodik siehe (94)).

2) Mit der Bestimmung des Anstiegs von cyclischem AMP als indirekten Parameter für die Stimulation der Schilddrüsenzelle. cAMP wird intrazellulär nach Aktivierung der Adenylat-Zyklase als "second messenger" aus ATP gebildet (104,129).

Neuere Studien geben Hinweise darauf, daß in die intrazelluläre Vermittlung von Hormonwirkungen auch andere Systeme neben dem cAMP System regulierend eingreifen (20,82,97,145) (Abb.12).

So konnte kürzlich ein stimulierender Einfluß von Phorbolesteren, die direkt zu einer Aktivierung der Proteinkinase C führen, auf die Schilddrüsenhormonfreisetzung gezeigt werden (56). Diese Proteinkinase C wird sonst durch Diacylglycerin, einem Abbauprodukt aus der Phosphatidylinositolhydrolyse aktiviert (Abb.12). Auch ein Einfluß von Calcium und Calmodulin auf die Hormonsekretion der Schilddrüse wurde beschrieben (96,99).

Auf dem Boden dieser Ergebnisse erscheint es durchaus denkbar, daß auch die stimulierende Wirkung von Autoantikörpern nicht allein über das cAMP System vermittelt wird. Daher erscheint zum Nachweis von stimulierenden Antikörpern ein System, welches die Stimulation der Schilddrüsenzelle in vitro direkt über den Anstieg der Hormonfreisetzung bestimmt, gegenüber cAMP-Methoden von Vorteil.

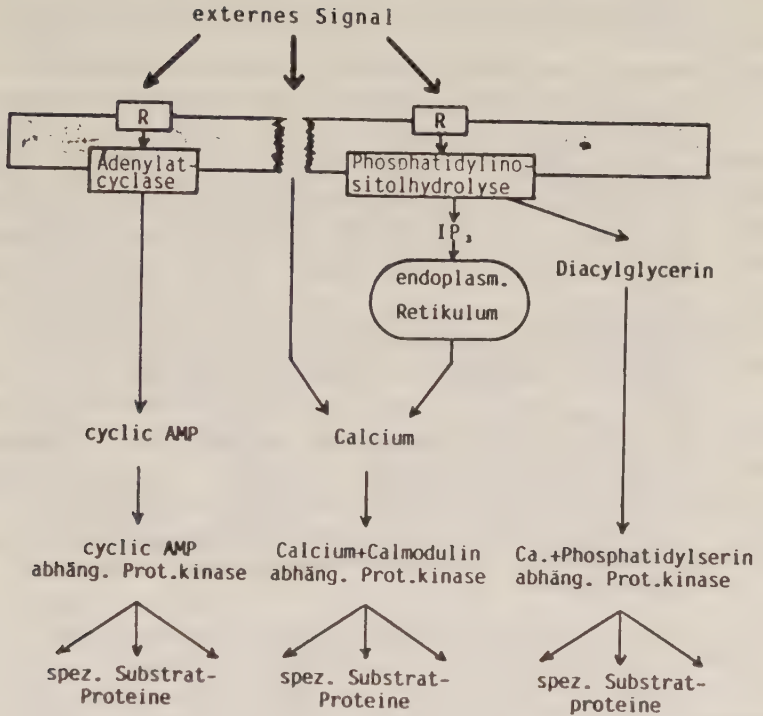


Abb.12: Übersicht über die Wirkungsweise von cAMP und Calcium in der intrazellulären Vermittlung extrazellulärer Signale. cAMP wird intrazellulär durch aktivierte Adenylatcyclase gebildet, Calcium gelangt teils aus dem Extrazellulärraum durch spannungsabhängige Calciumkanäle in der Zellmembran ins Zellinnere, teils wird es intrazellulär aus dem endoplasmatischen Retikulum mobilisiert. Dieser Vorgang wird durch einen Metaboliten der Phosphatidylinositolhydrolyse, dem Inositoltriphosphat (IP₃), stimuliert. In der Folge kommt es zur Aktivierung spezifischer Proteinkinasen und damit zur Phosphorylierung zellspezifischer Substratproteine (modifiziert nach (145)).

Das in der vorliegenden Arbeit verwendete Assaysystem bestimmt die Freisetzung von T₃ aus frisch präparierten Schilddrüsenschnitten. T₃ wird im Vergleich zu T₄, wie in verschiedenen in vitro und in vivo Studien gezeigt werden konnte (7,146,147), nach Stimulation

der Zelle durch TSH oder durch Autoantikörper bezogen auf die Basalfreisetzung prozentual vermehrt freigesetzt. Es eignet sich daher besser zur Erfassung einer stimulierten Hormonfreisetzung.

Als Zielorgan im TSAb Bioassay bieten Schweineschilddrüsen wegen ihrer größeren Homogenität und ihrer leichteren Verfügbarkeit Vorteile gegenüber humanen, meist pathologisch veränderten Operationspräparaten. Obwohl Zakarija et al. eine spezies-spezifische Wirkung von TSH Rezeptorantikörpern im Sinne einer unterschiedlichen Kreuzreaktion mit heterologen Schilddrüsen-antigenen vermuteten (158), konnten wir kürzlich mit Seren von Patienten mit M. Basedow sowohl eine vergleichbare Inzidenz positiver Ergebnisse als auch eine signifikante Korrelation der Titerhöhe in Schweine- und Humangewebe zeigen (62). Dies steht in Einklang mit anderen Studien, die bezüglich der Rezeptorbindung von Schilddrüsenantikörpern keinen Unterschied bei Verwendung von humanen und verschiedenen tierischen Schilddrüsenmembranpräparationen finden konnten (37,134). Somit erscheint die Verwendung von Schweine- anstelle von Humangewebe im TSAb Bioassay gerechtfertigt.

Bei Verwendung von Schweineschilddrüsenpräparationen ist die Intraassayvariabilität des TSAb Bioassays mit einem Variationskoeffizienten von 15% vergleichbar mit den Ergebnissen von Atkinson und Kendall-Taylor (7) und mit den Werten, die für verschiedene cAMP Systeme beschrieben werden (80,89,100,101,133).

Die hohe Interassayvariabilität des TSAb Bioassays (Variationskoeffizient 33%), wie sie auch von cAMP Systemen berichtet wird (80,89,100,101), kann durch Unterschiede der einzelnen Gewebe- und Membranpräparationen bezüglich der Interaktion zwischen Autoantikörper und Zielorgan erklärt werden. Dies konnte kürzlich von Gossage et al. für die Rezeptorbindung von Autoantikörpern eindeutig gezeigt werden (51).

Um in der vorliegenden Studie den Einfluß der hohen Interassayvariabilität des TSAb Bioassays zu vermindern, wurde die stimulierende Aktivität von Seren auf ein TSAb positives Kontrollserum sowie auf eine Negativkontrolle bezogen. Positiv- und Negativkontrolle wurden in jedem Ansatz mitgeführt.

Zur Beurteilung des Verlaufs der TSAb-Titer unter thyreostatischer Therapie bei einem Patienten wurden zur Umgehung der Interassayvariabilität die einzelnen Serumproben gesammelt, bei -20°C gelagert und anschließend in einem Testansatz bestimmt.

Die Stimulation der T3 Freisetzung im TSAb Bioassay durch bovinen TSH ist mit einer Nachweisgrenze von 0,1 IU/l bTSH und einem Bereich der maximalen Stimulation zwischen 1 und 5 IU/l bTSH annähernd identisch mit den Ergebnissen von Atkinson und Kendall-Taylor (7).

Bei Verwendung von Schilddrüsenmembranen oder Gewebeschnitten wird mit cAMP Systemen eine ähnliche Empfindlichkeit gegenüber TSH erreicht (21,46,63,100).

Wesentlich sensitiver sind neuere Systeme, die die cAMP Stimulation in isolierten Thyreozyten (22,80,133) oder der etablierten Rattenschilddrüsenzelllinie FRTL-5 (23,149) bestimmen. Mit diesen werden Nachweisgrenzen für TSH von etwa 0,01 IU/l und ein maximaler Anstieg des cAMP auf das 10- bis 15-fache des Basalwertes erreicht.

Betrachtet man die Inzidenz positiver Ergebnisse bei 70 Patienten mit frischem, unbehandelten M. Basedow stellt der TSAb Bioassay bei der verwendeten Auswertung (siehe 2.2.1) mit einer Inzidenz von 91% eine sensitive Methode zur Erfassung schilddrüsenstimulierender Antikörper dar. Atkinson und Kendall-Taylor (7) fanden mit ihrem Testsystem in 41 von 49 (84%) Patienten mit aktivem M. Basedow positive Ergebnisse. Für cAMP Systeme wird eine Häufigkeit positiver Befunde beim unbehandelten M. Basedow zwischen 60% und 100% berichtet (13,21,22,46,80,101,133,149).

Radiorezeptorassay zum Nachweis TSH bindungsinhibierender Immunglobuline (TBII)

TBII wurde in der vorliegenden Arbeit mit einem kommerziell erhältlichen Radiorezeptorassay (TRAK-Assay, Fa. Henning, Berlin) bestimmt. Die Methode beruht nach Shewring und Smith (127) auf der Verwendung solubilisierter TSH Rezeptoren. Im Vergleich zu membrangebundenen TSH Rezeptoren bieten solubilisierter Rezeptoren

den Vorteil einer höheren Sensitivität gegenüber TBII und einer geringeren Interaktion mit normalen Immunglobulinen (72,105,127). Außerdem kann durch den Fortfall unspezifischer Effekte von Serumproteinen unextrahiertes Serum eingesetzt werden (72,73).

Bei einer ausreichenden Intraassaypräzision (Variationskoeffizient 4-25%) lag die Interassayvariabilität des TBII Radiorezeptorassays in unserem Kollektiv mit einem Variationskoeffizienten von 15% bis 60% sehr hoch und auch geringfügig über den aus der Literatur vom TRAK-Assay (18,19,119,120) und von anderen Radiorezeptorassays (47,122,127) bekannten Werten. Auch hierfür mögen, ähnlich dem TSAb Bioassay, Unterschiede in den Rezeptorpräparationen verantwortlich sein (51). Daher wurden, wie für den TSAb Bioassay beschrieben, Serumproben von Patienten, bei denen der Verlauf der TBII-Titer beurteilt werden sollte, gesammelt, bei -20°C gelagert und anschließend in einem Testansatz bestimmt. Damit konnte der Einfluß der schlechten Interassaypräzision umgangen werden.

Durch Zugabe von bTSH konnte ab einer Konzentration von 2 IU/l eine vom Nullwert signifikant abweichende ^{125}J -TSH Bindung an den Rezeptor erreicht werden. Diese Werte decken sich fast exakt mit den von Shewring und Smith für diese Methode beschriebenen (127).

Wir konnten mit diesem Assaysystem und der von uns verwendeten Auswertung (siehe 2.2.2.) bei 70 Patienten mit unbehandeltem, aktiven M. Basedow in 63 Fällen (90%) ein positives Ergebnis für TBII finden. Allgemein wird in der Literatur bei Patienten mit frischem M. Basedow für Radiorezeptorassays eine Inzidenz positiver Befunde zwischen 50% und 100% berichtet (39,45,47,49,95,122,128,136,141). Speziell für den TRAK-Assay liegt sie übereinstimmend mit unseren Ergebnissen bei etwa 90% (18,19,119,120).

4.2. TSAb und TBII bei Patienten mit unbehandeltem, aktiven M. Basedow

Die Inzidenz von TSAb und TBII wurde an 70 Patienten mit frischem, unbehandeltem M. Basedow untersucht und verglichen. Der Prozentsatz der Patienten, die gleichzeitig an einer endokrinen Orbitopathie litten (59%), sowie die Inzidenz erhöhter Titer von mikrosomalen (70%) und Thyreoglobulinantikörpern (31%) sind vergleichbar mit den an großen Patientenkollektiven erhobenen Zahlen (6,38,118,126).

Mit einer Inzidenz positiver Befunde bei diesen 70 Patienten von 91% im TSAb Bioassay und 90% im TBII Radiorezeptorassay bieten beide Methoden, wie oben diskutiert, eine hohe und vergleichbare Sensitivität zur Erfassung von Autoantikörpern beim M. Basedow.

Negative Antikörpertiter bei Patienten mit unbehandeltem, aktiven M. Basedow können zum einen erklärt werden durch eine zu niedrige Sensitivität der verwendeten Nachweisverfahren, zum anderen durch die Vorstellung, daß Antikörper hauptsächlich durch intrathyroidal gelegene Lymphozyten synthetisiert und sezerniert werden (30,68,91,150). Die im Serum meßbaren Antikörperaktivitäten würden so nur einem "Overflow" aus der Schilddrüse entsprechen.

Betrachtet man die Verdünnungsreihe eines antikörperpositiven Serums in beiden Assaysystemen zeigt sich ein, proportional zu den Ausgangswerten, paralleler Abfall der TSAb- und TBII-Aktivitäten (Abb.5). Diese Dosiswirkungsbeziehungen konnten auch mit isolierten IgG-Fractionen (Protein-A Sepharose CL-4B, Pharmacia) von Patienten mit M. Basedow bestätigt werden (94).

Die gezeigte Vergleichbarkeit der Inzidenz und der Dosiswirkungsbeziehungen von TSAb und TBII bilden die Grundlage für Gegenüberstellungen von Ergebnissen des TSAb Bioassays und des TBII Radiorezeptorassays.

Trotz der vergleichbaren Inzidenz positiver Ergebnisse bei Patienten mit M. Basedow in beiden Methoden ist der TSAb Bioassay gegenüber TSH deutlich sensitiver (7,127). Seine Nachweisgrenze liegt bei im Mittel 0,1 IU/l TSH, die des TBII Radiorezeptorassays

bei im Mittel 2 IU/l TSH. Dies läßt vermuten, daß sich TSH und TSH Rezeptorantikörper hinsichtlich des Verhältnisses zwischen Rezeptorbindung und biologischer Aktivierung der Zelle unterscheiden. Kürzlich konnte gezeigt werden, daß bei Immunglobulinen von Patienten mit M. Basedow die Affinität an den TSH Rezeptor und die intrinsische biologische Aktivität voneinander unabhängig sind (31). Die Bindung an den TSH Rezeptor ist also nicht in jedem Fall mit einer funktionellen Stimulation verbunden. Dies wird erklärt durch die Heterogenität der Antikörper, also die gleichzeitige Existenz von funktionell aktiven und funktionell inaktiven Antikörpern (40,41,45,148). Daraus kann man schließen, daß im TSAb Bioassay und im TBII Radiorezeptorassay qualitativ verschiedene Gruppen von Antikörpern und damit auch quantitativ eine unterschiedliche Zahl von Antikörpern erfaßt werden. Die in beiden Systemen unterschiedliche Sensitivität gegenüber TSH bei vergleichbarer Sensitivität gegenüber TSH Rezeptorantikörpern wird so verständlich.

Beim Vergleich der Antikörperaktivitäten von Patienten mit unbehandeltem M. Basedow, findet sich in unserem Kollektiv keine Korrelation zwischen der Höhe der TSAb- und TBII-Titer. Dies läßt sich aus der oben diskutierten Heterogenität der Antikörper gut erklären.

In der Literatur wird dieser Punkt jedoch sehr kontrovers diskutiert. Während einige Autoren eine gute Korrelation zwischen IATS und TBII (39,102) bzw. TSAb und TBII (8,25,27,34,59) bei Patienten mit frischem, unbehandeltem M. Basedow beschrieben, konnten andere in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen keine Verbindung zwischen TSAb und TBII beobachten (57,75,79,95,136). Bliddal et al. (27) fanden, obwohl TSAb und TBII in der Mehrzahl ihrer Patienten gut korrelierten, bei einem kleinen Teil der Fälle eine deutliche Diskordanz der beiden Parameter. Die Arbeitsgruppe von Ginsberg (50) zeigte, daß sich TSAb und TBII hinsichtlich ihrer Dosis-Wirkungsbeziehung unterscheiden können und daß dies abhängig von der eingesetzten Menge an Immunglobulinen und abhängig von der Sensitivität der jeweiligen Methode zu unterschiedlichen Ergebnissen der Antikörperbestimmungen führen

kann. Die Autoren führen dies auf einen unterschiedlichen TSH Agonismus der Rezeptorantikörper zurück.

Man muß somit annehmen, daß Unterschiede in den untersuchten Patientenkollektiven und Unterschiede in den verwendeten Methoden ein wesentlicher Grund für die Widersprüchlichkeit der Ergebnisse in der Literatur sind.

Bei Anwendung des auch von uns verwendeten TSAb Bioassays und eines TBII Radiorezeptorassays fanden Hardisty et al. (57) kürzlich bei 38 Patienten mit frischem M. Basedow keine Korrelation zwischen TSAb und TBII.

Im gleichen Patientenkollektiv korrelierten in dieser Studie die TSAb-, nicht die TBII-Aktivitäten mit den peripheren Schilddrüsenhormonspiegeln (TSAb/T3, $p < 0,05$; TSAb/T4, $p < 0,001$). Übereinstimmend fanden wir eine schwach signifikante Korrelation zwischen TSAb/T3 ($p < 0,05$) und TSAb/T4 ($p < 0,05$). Die fehlende Korrelation zwischen TBII und Schilddrüsenhormonspiegeln wurde bereits von anderen Arbeitsgruppen berichtet (45,138).

Durch diese Ergebnisse wird die Bedeutung des TSAb Bioassays als ein die in vivo Situation am ehesten wiederpiegelndes in vitro Assaysystem unterstrichen.

Ein Zusammenhang zwischen den TSAb- bzw. TBII-Aktivitäten und erhöhten Titern für mikrosomale oder Thyreoglobulinantikörper konnte in unserem Patientenkollektiv nicht gefunden werden. Eine mögliche Erklärung ist die Verschiedenheit der korrespondierenden Antigene. Das mikrosomale Antigen steht in enger Verbindung mit dem endoplasmatischen Retikulum (113) und ist nach neueren Studien möglicherweise identisch mit der Schilddrüsen-Peroxidase (108). Im Gegensatz dazu sind TSAb und TBII gegen ein Antigen an der Außenseite der Zellmembran, wohl den TSH Rezeptor selbst gerichtet (129).

Weiterhin konnte in unserem Kollektiv kein Zusammenhang zwischen TSAb bzw. TBII und dem Vorliegen einer endokrinen Orbitopathie gefunden werden. Dies stimmt mit früheren Studien überein (130,140).

Möglicherweise wird die endokrine Orbitopathie durch eine eigene Population von Autoantikörpern hervorgerufen, welche gegen ein

Augenmuskelantigenen gerichtet sind und nicht mit Schilddrüsenantigenen interagieren (69,70). Die endokrine Orbitopathie würde so eine eigenständige Autoimmunerkrankung darstellen. Andere Autoren vermuten eine Kreuzreaktion von Antikörpern gegen bestimmte Determinanten des TSH Rezeptors mit Antigenen im Retroorbitalgewebe (156). Unterstützt wird diese Theorie durch neue Ergebnisse von Rotella et al. (116), die zeigen, daß bestimmte monoklonale Antikörper gegen den TSH Rezeptor zugleich die Kollagensynthese in Fibroblasten stimulieren können.

4.3. TSAb- und TBII-Aktivitäten bei Patienten mit M. Basedow unter thyreostatischer Therapie

Betrachtet man die TSAb- und TBII-Aktivitäten bei Patienten mit M. Basedow unter thyreostatischer Therapie, zeigt sich im Mittel eine schrittweise Abnahme der Antikörperaktivitäten und der Inzidenz positiver Ergebnisse. Dies bestätigt sich auch in der Mehrzahl unserer 25 konsekutiv beobachteten Patienten und stimmt mit zahlreichen Studien überein, die einen Abfall von TBII (26,48,86,123,141) und von TSAb (15,81,95,159) unter thyreostatischer Therapie zeigen.

Dieser Rückgang der Antikörperaktivitäten mag bedingt sein durch das Auftreten spontaner Remissionen unter Therapie.

Auch eine immunsuppressive Wirkung von Thyreostatika wird diskutiert (85,86,152). In vitro konnte durch Methimazol eine Hemmung der Schilddrüsenantikörperproduktion von isolierten Lymphozyten erreicht werden (154). Methimazol akkumuliert in Schilddrüsenzellen und Antigen-präsentierenden Zellen wie Monozyten oder Makrophagen, nicht in Lymphozyten (153). Der immunsuppressive Effekt an Lymphozyten mag durch Antigen-präsentierende Zellen vermittelt werden (151). Jansson et al. (65) konnten dagegen zeigen, daß die Methimazolkonzentrationen, die benötigt werden, um in vitro einen immunsuppressiven Effekt zu induzieren, in Schilddrüsen von Patienten, welche nach thyreostatischer

Vorbehandlung subtotal strumektomiert wurden, nicht erreicht werden.

Kürzlich untersuchten Töttermann und Mitarbeiter zirkulierende und organständige T-Lymphozyten bei Patienten mit M. Basedow vor und unter einer thyreostatischen Therapie mit Methimazol (144). Sie beobachteten einen raschen Rückgang HLA-DR positiver T-Helfer Zellen bei einem gleichzeitigen Anstieg HLA-DR positiver T-Suppressor Zellen. Diese Veränderungen wurden direkt von einem Rückgang von zirkulierenden mikrosomalen Antikörpern, von Thyreoglobulin- und TSH Rezeptorantikörpern begleitet. Ein direkter Einfluß von Methimazol auf die DR-Expression der T-Lymphozyten konnte in vitro jedoch nicht gefunden werden. Die Autoren sehen in der Beeinflussung der Stoffwechselsituation durch Methimazol und eine dadurch veränderte Expression von Histokompatibilitätsantigenen und Autoantigenen am Thyreozyten den Schlüssel für den Einfluß dieses Thyreostatikums auf aktivierte T-Zellen.

Nur wenige Studien haben bisher die Entwicklung von TSAb und TBII unter thyreostatischer Medikation direkt verglichen (27,59,67,75). Bliddal et al. (27) zeigten ein paralleles Verhalten beider Antikörper in 39 von 45 untersuchten Patienten. Jedoch waren in dieser Studie TSAb und TBII bereits vor Therapiebeginn hochsignifikant miteinander korreliert ($p < 0,0001$). Kasagi et al. (67) beobachteten einen parallelen Abfall von TSAb und TBII bei 9 von 17 Patienten. Auch bei diesen Patienten korrelierten TSAb und TBII vor Therapiebeginn ($p < 0,02$). 7 der 17 Patienten zeigten unter thyreostatischer Therapie nur eine geringe Änderung beider Antikörperaktivitäten. 1 Patient entwickelte eine Hypothyreose mit hoch positivem TBII-Spiegel und funktionell blockierenden Antikörpern. Die Arbeitsgruppe von Hensen (59) fand ebenfalls in den meisten Fällen eine gute Korrelation zwischen TSAb und TBII vor und unter Therapie. Betrachtet man die 25 konsekutiv beobachteten Patienten unserer Studie so konnte trotz der fehlenden Korrelation der Antikörpertiter vor Therapie in der Mehrzahl der Patienten ($n = 19$) ein konkordantes Verhalten von TSAb und TBII unter Therapie gezeigt werden.

Im untersuchten Patientenkollektiv war ein im Vergleich zu den TBII-Titern im Mittel signifikant früherer Abfall der TSAb-Titer in den Normbereich zu beobachten. Dies entspricht den Ergebnissen von Kuzuya und Mitarbeitern (75), steht jedoch im Widerspruch zu den Daten der Arbeitsgruppe von Kasagi (67). Ursache hierfür sind möglicherweise Unterschiede in der Sensitivität der verwendeten Assaysysteme für TSAb und TBII, was voneinander abweichende Zeitpunkte für das Erreichen des Normbereichs zur Folge haben kann. Darüberhinaus zeigen 6/25 Patienten unseres Kollektivs einen diskordanten Verlauf beider Antikörper, d.h. ein Persistieren von TBII bei gleichzeitigem Abfall von TSAb. Den umgekehrten Fall konnten wir nicht beobachten. Diese Diskordanz wurde durch Vergleiche des TBII/TSAb Verhältnisses und durch Dosiswirkungskurven eindeutig dokumentiert. Kasagi und Mitarbeiter (67) sahen dies nur in 1/17 Fällen. Somit ist der im Vergleich zu den mittleren TSAb-Titern langsamere Rückgang der mittleren TBII-Titer in unserem Kollektiv auch durch einen höheren Anteil von Patienten mit nach 12 Monaten persistierenden TBII-Aktivitäten zu erklären.

Vergleicht man das Verhältnis zwischen TBII und TSAb bei Patienten mit konkordantem ($n = 19$) und diskordantem ($n = 6$) Verlauf, zeigt sich in der diskordanten Gruppe bereits nach drei Monaten eine signifikante Verschiebung des Verhältnisses zugunsten von TBII, d.h. zugunsten funktionell inaktiver oder möglicherweise blockierender Antikörper. Bei den Patienten mit konkordantem Verlauf der Antikörper veränderte sich dieses Verhältnis unter Therapie nicht signifikant. Man kann daraus schließen, daß sich bei diesen Patienten, trotz einer unterschiedlichen Verteilung von TSAb und TBII vor Therapie, die TSAb- und TBII-Aktivitäten unter thyreostatischer Therapie proportional entwickelten.

Kuzuya und Mitarbeiter (75) konnten übereinstimmend mit unseren Ergebnissen bei 4 von 16 Patienten ein Persistieren von TBII bei gleichzeitigem Abfall von TSAb, also eine diskordante Entwicklung finden. Gossage et al. (52) zeigten bei der Gegenüberstellung von TBII und Perthechnetat-Uptake als Maß für die stimulierende Aktivität bei 5 von 19 Patienten eine Normalisierung des

Pertechnetat-Uptake bei Persistenz von TBII. Die Arbeitsgruppe von Kasagi (67) beobachtete, wie oben beschrieben, einen Fall mit Entwicklung sehr hoher TBII-Titer und funktionell blockierender Antikörper unter thyreostatischer Therapie.

Welche Faktoren eine diskordante Entwicklung verursachen können ist noch unklar. Mögliche Erklärungen sind die Selektion bestimmter B-Zell-Klone, welche funktionell inaktive Antikörper sezernieren und das regulierende Eingreifen von antiidiotypischen Antikörpern. Es handelt sich dabei um endogene Antikörper, welche gegen TSH Rezeptorantikörper des individuellen Patienten (Idiotyp) gerichtet sind. Ihre Existenz wurde erstmals 1974 von Jerne (66) postuliert und erhielt in der letzten Zeit Unterstützung durch verschiedene andere Autoren (9,64). Einige dieser antiidiotypischen Antikörper sind möglicherweise gegen die Epitope der Autoantikörper gerichtet, mit denen diese an den TSH Rezeptor binden. Dies führt zu einer Ähnlichkeit in der Konformation zwischen Antiidiotyp und Antigen, d.h. TSH Rezeptor. Diese Gruppe antiidiotypischer Antikörper wäre somit in der Lage, TSH zu binden. Tatsächlich konnten verschiedene Autoren in den Seren von Patienten mit M. Basedow TSH bindende Immunglobuline nachweisen (4,12,25). Raines et al. (109) konnten kürzlich eine negative Korrelation zwischen diesen antiidiotypischen, TSH bindenden Antikörpern und TSH Rezeptorantikörpern zeigen. Man könnte daraus postulieren, daß die Interaktion zwischen Antigen und Autoantikörper und damit die Krankheitsaktivität durch antiidiotypische Antikörper reguliert wird. Diese Wirkung kommt nicht nur in vivo zum tragen, sondern beeinflußt auch die zum Autoantikörpernachweis verwendeten in vitro Methoden (25). Antiidiotypische Antikörper könnten somit durch Bindung von Autoantikörpern auch die Ergebnisse im TSAb bzw. TBII Assay beeinflussen.

Darüberhinaus gibt es Hinweise, daß antiidiotypische Antikörper möglicherweise die Produktion von TSH Rezeptorantikörpern durch B-Lymphozyten inhibieren (142).

4.4. Prognostische Aussagekraft von TSAb und TBII

Beim Erstauftreten einer Basedowhyperthyreose stellen Thyreostatika nach wie vor eine Therapie der ersten Wahl dar. Vermutlich durch das Auftreten von Spontanremissionen kommt es bei etwa 30% bis 50% der Patienten nach einer ein- bis eineinhalbjährigen thyreostatischen Therapie zu einer anhaltenden Remission der Basedowhyperthyreose (32,111,131). Jedoch erleiden 50% bis 70% der Patienten nach Absetzen der Thyreostatika ein Rezidiv der Erkrankung und werden dann meist einer ablativen Therapie (Strumektomie, Radiojodtherapie) zugeführt. Aus diesem Grund wurde in den letzten Jahren nach Parametern gesucht, welche zu einem möglichst frühen Zeitpunkt eine Aussage über den weiteren Verlauf der Erkrankung ermöglichen und somit die Festlegung des weiteren therapeutischen Vorgehens im individuellen Fall erleichtern. Die Ergebnisse verschiedener klinischer und laborchemischer Untersuchungen wie Strumagröße (77), periphere Schilddrüsenhormonwerte (137), TRH-Test (35), 99m-Technetium-Uptake (52) oder HLA-Typisierung (5) wurden auf ihren Vorhersagewert hin überprüft. Jedoch gelang mit keinem dieser Parameter eine sichere Aussage über den Langzeitverlauf eines M. Basedow.

1977 konnten Davies und Mitarbeiter (36) durch Bestimmung von TBII am Ende einer sechsmonatigen thyreostatischen Therapie in fast allen Fällen eine eindeutige Aussage über den weiteren Verlauf der Erkrankung treffen. Durch verschiedene andere, teilweise widersprüchliche Studien bleibt die prognostische Aussagekraft von TSH Rezeptorantikörpern jedoch weiterhin umstritten (39,98,123,141). Neuere Berichte deuten darauf hin, daß nur hohe Titer von TSAb (15,138,159) und TBII (26,52,84,141) am Ende einer thyreostatischen Therapie eine eindeutige Aussagekraft bezüglich eines Rezidivs einer Hyperthyreose haben.

Die oben diskutierte Heterogenität der Autoantikörper und die Möglichkeit der Dissoziation von TSAb und TBII ist möglicherweise von großer Bedeutung, wenn man die Antikörperbestimmungen auf ihre prognostische Aussagekraft hin untersucht. In der vorliegenden

Arbeit wurden erstmals TSAb und TBII hinsichtlich ihres Vorhersagewertes am gleichen Patientenkollektiv direkt verglichen.

Die 25 konsekutiv beobachteten Patienten wurden einheitlich einer 12 monatigen thyreostatischen Therapie unterzogen. Damit konnten Einflüsse der Therapiedauer auf die Remissionsrate ausgeschlossen werden. So verglich die Arbeitsgruppe von Tamai (139) die Remissionsraten nach 6, 12, 18 und 24 Monaten thyreostatischer Therapie und fanden eine signifikant höhere Remissionsrate bei längerer Therapiedauer. Im Gegensatz hierzu stehen Studien, die keinen signifikanten Unterschied in den Remissionsraten nach einer Kurzzeittherapie bis zum Erreichen der Euthyreose und nach einer Therapie über mindestens 12 Monate beobachteten (24,55).

Ebenfalls umstritten ist der Einfluß der verabreichten Dosierung von Thyreostatika auf die Remissionsrate. Romaldini et al. (114) konnten durch Verabreichung einer Erhaltungsdosis von 40 bis 100 mg Methimazol im Vergleich zu einer Erhaltungsdosis von 5 bis 25 mg Methimazol eine signifikant höhere Remissionsrate nach Therapieende erreichen. Dies spricht möglicherweise für eine immunsuppressive Wirkung dieser Medikamente. Jedoch war bei hochdosierter Therapie auch eine deutlich höhere Zahl schwerer Nebenwirkungen wie toxischer Hepatitis oder Agranulozytose sowie leichter Nebenwirkungen zu beobachten.

Die Patienten der vorliegenden Studie wurden mit einer dem Bedarf angepaßten Erhaltungsdosis von 5 bis 30 mg Methimazol täglich therapiert.

Vergleicht man die benötigte Methimazolerhaltungsdosis in der Gruppe mit anschließender Remission und der Gruppe mit anschließendem Rezidiv der Basedowhyperthyreose fand sich im Mittel ein geringfügiger, jedoch nicht signifikant höherer Bedarf in der Rezidivgruppe.

Remissions- und Rezidivgruppe waren vergleichbar hinsichtlich verschiedener klinischer und laborchemischer Parameter wie dem mittleren Alter der Patienten, der Häufigkeit einer begleitenden endokrinen Orbitopathie, der Inzidenz von erhöhten Titern für

mikrosomale und Thyreoglobulinantikörper sowie den peripheren Schilddrüsenhormonspiegeln vor Therapiebeginn.

Weder die Bestimmung von TSAb noch die Bestimmung von TBII vor, während und am Ende der thyreostatischen Therapie erlaubten eine eindeutige Abgrenzung zwischen den beiden Gruppen mit anschließender Remission bzw. mit anschließendem Rezidiv der Basedow-Hyperthyreose.

Eine Persistenz der TSAb-Titer mit positiven Werten bei Therapieende war in allen 5 Fällen mit einem raschen Wiederauftreten der Hyperthyreose innerhalb eines Monats verbunden. Ein negatives Ergebnis für TSAb bei Therapieende bedeutete jedoch nur in 12 von 20 Fällen eine über 18 Monate anhaltende Remission der Erkrankung. Daraus errechnet sich in unserem Kollektiv eine Sensitivität der Bestimmung von TSAb bei Therapieende bezüglich der Voraussage eines späteren Rezidivs von 38%, eine Spezifität von 100% und ein prädiktiver Wert von 100%. Die mittleren TSAB-Titer bei Therapieende liegen in der Rezidivgruppe schwach signifikant über denen der Remissionsgruppe. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit denen von Madec et al. (81), welche in 13/16 Patienten mit positiven TSAB-Werten bei Therapieende und in 16/39 mit negativen TSAB-Werten ein anschließendes Rezidiv der Erkrankung beobachteten. Auch frühere Daten der Arbeitsgruppen von Zakarija (159) und Bech (15) bestätigen diese Befunde, zeigen jedoch darüber hinaus eine signifikante Korrelation zwischen negativen Antikörpertitern bei Therapieende und anhaltender Remission der Erkrankung. Bei Bestimmung der stimulierenden Aktivität mittels T3 Freisetzung konnten Takata und Mitarbeiter (138) bei 9 von 22 Patienten ein Persistieren der TSAb-Aktivität während einer thyreostatischen Therapie und bei 8 dieser 9 Patienten ein späteres Hyperthyreosereizidiv beobachten. 3 von 13 Patienten mit negativen Antikörpertitern bei Therapieende erlitten ebenfalls ein Rezidiv.

Die Höhe der mittleren TBII-Aktivitäten unterschieden sich in unserem Patientenkollektiv zu keinem Zeitpunkt signifikant zwischen Remissions- und Rezidivgruppe. Von 14 Patienten mit negativem TBII-Titer bei Therapieende blieben 8 (57%) während der

18-monatigen Nachbeobachtungszeit in Remission der Basedow-Hyperthyreose.

Bei 4 Patienten konnten wir eine anhaltende Remission der Erkrankung trotz positiver TBII-Spiegel bei Absetzen der thyreostatischen Medikation beobachten. Diese Möglichkeit wurde bereits von verschiedenen anderen Autoren berichtet (28,53,123) und ist wohl durch das Auftreten funktionell inaktiver oder blockierender Antikörper zu erklären (45).

6 von 14 Patienten (43%) mit negativer und 7 von 11 Patienten (64%) mit positiver TBII-Aktivität bei Therapieende erlitten ein Rezidiv der Erkrankung. Dies trat in der Gruppe mit negativen TBII-Werten bei Therapieende im Mittel schwach signifikant später ein ($p < 0,05$). Das Eintreten eines Hyperthyreosereizidivs trotz negativer TBII-Werte am Ende einer thyreostatischen Therapie wurde bereits von mehreren Arbeitsgruppen beschrieben (26,123,141).

Eine mögliche Begründung dafür ist die Tatsache, daß die Bestimmung von TSH Rezeptorantikörpern die Aktivität der zum Zeitpunkt der Entnahme im Serum zirkulierenden Antikörper widerspiegelt, jedoch nie direkt über immunologische Veränderungen in der Schilddrüse Auskunft geben kann.

Schleusener et al. (123) fanden bei der Bestimmung von TBII einen eindeutig signifikanten Zusammenhang zwischen dem Abfall der TBII-Titer in den Normbereich unter thyreostatischer Therapie und dem Eintreten einer anhaltenden Remission der Erkrankung. Ebenso korrelierte ein Persistieren der TBII-Aktivitäten mit dem Auftreten eines Hyperthyreosereizidivs nach Absetzen der thyreostatischen Therapie. In 2 von 15 Fällen zeigte sich jedoch auch hier die Möglichkeit einer Remission trotz persistierender TBII-Titer, in 3 von 20 Fällen die Möglichkeit eines Rezidivs der Erkrankung trotz negativer TBII-Werte bei Therapieende.

Teng et al. (141) schränkten diese Aussagen auf eine Korrelation zwischen hohen TBII-Aktivitäten bei Ende der Therapie und dem anschließenden Auftreten eines Hyperthyreosereizidivs ein. Ein Abfall der TBII-Titer hatte in dieser Studie keine prognostische Aussagekraft.

Auch Bliddal et al. (26) zeigten eine signifikant höhere mittlere TBII-Aktivität bei Therapieende bei Patienten mit nachfolgendem

Hyperthyreoserezidiv. Eine eindeutige Abgrenzung zwischen Remissions- und Rezidivgruppe war auch in dieser Studie nicht möglich.

Docter et al. (39) konnten in Übereinstimmung mit der vorliegenden Arbeit keine signifikante prognostische Aussagekraft der Bestimmung von TBII im Verlauf einer thyreostatischen Therapie finden.

Als Ursache für die teilweise sehr widersprüchlichen Angaben in der Literatur über Häufigkeiten antikörperpositiver und -negativer Befunde am Ende einer thyreostatischen Therapie sowie über deren Zusammenhang mit dem Auftreten einer Remission oder eines Rezidivs der Erkrankung kommen eine Vielzahl von Einflußfaktoren in Frage. Eine geringe Größe der Patientenkollektive, unterschiedliche Sensitivitäten der Assaysysteme sowie verschieden lange Therapie- und Nachbeobachtungszeiten besitzen dabei wohl die größte Bedeutung.

Stellt man die prognostische Aussagekraft der TSAb- und TBII-Aktivitäten in unserem Patientenkollektiv einander gegenüber, scheint ein Persistieren von TSAb mit positiven Werten bei Therapieende mit einer erhöhten Krankheitsaktivität und einem frühen Hyperthyreoserezidiv verbunden zu sein. Wir konnten dies in 5 von 25 Patienten (20%) beobachten. Ein Persistieren der TBII-Aktivitäten bei Ende der thyreostatischen Therapie erlaubte hingegen keine Aussage bezüglich des weiteren Krankheitsverlaufs eines individuellen Patienten. Hinsichtlich einer Remission der Erkrankung besitzten weder TSAb noch TBII einen eindeutigen Voraussagewert im individuellen Fall. Ob ein Persistieren von TBII mit einem statistisch erhöhten Rezidivrisiko, wie es in unserem Kollektiv scheint (Rezidivrate 64% vs. 43%), verbunden ist, müßen Studien mit großen Fallzahlen klären.

Eine Verbindung der Aussagen beider Antikörperaktivitäten erbrachte in unserem Patientenkollektiv keine zusätzliche Information über den Krankheitsverlauf nach Absetzen einer thyreostatischen Therapie.

5. Zusammenfassung

Die Hyperthyreose vom Typ Basedow gilt heute als gesicherte Autoimmunerkrankung, bei der Autoantikörper gegen den TSH Rezeptor als pathogenetisch entscheidende Faktoren angesehen werden.

Die heute zum Nachweis dieser Autoantikörper verwendeten Methoden beruhen einerseits auf ihrer Bindung an den TSH Rezeptor, andererseits auf ihrer stimulierenden Wirkung auf die Schilddrüsenzelle.

Da TSH Rezeptorantikörper eine heterogene Gruppe von Antikörpern mit teilweise stimulierenden, teilweise blockierenden Wirkungen am TSH Rezeptor darstellen, können die beschriebenen Nachweismethoden unterschiedliche Populationen von Antikörpern erfassen.

Ziel dieser Arbeit war es, die Bedeutung von Autoantikörpern gegen den TSH Rezeptor in der klinischen Verlaufskontrolle des Morbus Basedow zu klären. Dabei sollte besonders der Einfluß der verwendeten Nachweismethode untersucht werden.

Autoantikörper wurden bei Patienten mit Morbus Basedow vor und unter thyreostatischer Therapie, sowie hinsichtlich ihrer prognostischen Aussagekraft bestimmt.

Ein T3-Bioassay diente zum Nachweis schilddrüsenstimulierender Antikörper (TSAb), ein Radiorezeptorassay (TRAK-Assay, Fa. Henning) zum Nachweis TSH bindungsinhibierender Antikörper (TBII).

Bei 70 Patienten mit unbehandeltem, aktiven M. Basedow zeigte TSAb eine Inzidenz von 91%, TBII eine Inzidenz von 90%. Die beiden Antikörperaktivitäten waren nicht miteinander korreliert. Es fand sich ein schwach signifikanter Zusammenhang zwischen TSAb- und T3- und T4-Spiegeln im peripheren Blut.

Im Verlauf einer thyreostatischen Therapie mit Methimazol (initial 40-60 mg/Tag, Erhaltungsdosis 5-30 mg/Tag) zeigte sich in den Seren (n=211) von 71 Patienten unter thyreostatischer Therapie im Mittel eine abnehmende Aktivität für TSAb und TBII.

Diese Abnahme der TSAb- und TBII-Aktivitäten bestätigte sich auch in der Mehrzahl der Einzelverläufe von 25 ausgewählten Patienten.

TSAb fiel während der Therapie in 20 von 25 Fällen innerhalb von 1 bis 7 Monaten (im Mittel 2,5 Monate) in den Normbereich ab. Bei 5 Patienten war TSAb nach dieser Zeit noch signifikant erhöht. TBII normalisierte sich in diesem Zeitraum in 14 von 25 Patienten innerhalb von 1 bis 11 Monaten (im Mittel 4,9 Monate) und persistierte in 11 Fällen. Bei 14 Patienten fielen beide Antikörperaktivitäten gleichsinnig in den Normbereich ab, in 5 Fällen blieben beide signifikant erhöht. Bei 6 Patienten konnte eindeutig eine diskordante Verhalten von TSAb und TBII dokumentiert werden.

Weiterhin konnten diese 25 Patienten über 18 Monate nach Absetzen der thyreostatischen Therapie hinsichtlich des weiteren Verlaufs der Erkrankung beobachtet werden. 13 von 25 Patienten (52%) entwickelten innerhalb von 1 bis 15 Monaten (Mittel 4,9 Monate) ein Hyperthyreoserezidiv. Vor und unter thyreostatischer Therapie zeigte sich kein signifikanter Unterschied der TSAb- und TBII-Titer zwischen Remissions- und Rezidivgruppe. Ein Persistieren von TSAb bei Therapieende war in allen Fällen (n=5) mit einem frühen Rezidiv der Erkrankung verbunden. 8 von 20 Patienten (40%) mit negativem TSAb bei Absetzen der Therapie erlitten ebenfalls ein Hyperthyreoserezidiv. Ein Persistieren von TBII war in 7 von 11 Fällen (64%) mit einem späteren Rezidiv der Erkrankung verbunden, ein Absinken von TBII in den Normbereich in 6 von 14 Fällen (43%). Eine Verbindung der Aussagen beider Antikörperaktivitäten erbrachte keine zusätzliche Information über den weiteren Krankheitsverlauf.

Zusammenfassend stellt sowohl die Bestimmung von TSAb im T3 Bioassay als auch die Bestimmung von TBII im Radiorezeptorassay eine sensitive Methode zur Erfassung von TSH Rezeptorantikörpern beim M. Basedow dar. Beide Antikörperaktivitäten korrelieren nicht bei Patienten vor Therapie. Unter thyreostatischer Therapie konnte bei einigen Patienten die Möglichkeit einer diskordanten Entwicklung von TSAb und TBII eindeutig dokumentiert werden. Sowohl mit der Bestimmung von TSAb als auch mit der Bestimmung von TBII ist im individuellen Fall keine prognostische Aussage über den Verlauf eines M. Basedow nach Absetzen einer thyreostatischen

Therapie möglich. Lediglich eine Persistenz von TSAb bei Therapieende, wie sie in wenigen Fällen beobachtet wurde, scheint mit einer erhöhten Krankheitsaktivität und einem frühen Rezidiv der Erkrankung verbunden zu sein.

Aufgrund dieser Ergebnisse erscheint die klinische Bedeutung der Bestimmung von TSH Rezeptorantikörpern besonders in der Differenzierung zwischen immunogener und nicht immunogener Hyperthyreose zu liegen, soweit diese auf dem Boden klinischer Kriterien nicht sicher möglich ist. Dabei ist die Aussagekraft von TSAb und TBII vergleichbar. Der Nutzen der Bestimmung sowohl von TSAb als auch von TBII unter thyreostatischer Therapie erscheint zur Beurteilung des Krankheitsverlaufs eines individuellen Patienten beschränkt.

6. Literatur

1. Adams DD, Purves HD (1956): Abnormal responses in the assay of thyrotrophin. Univ Otago Med School Proc 36:11-12
2. Adams DD, Kennedy TH (1967): Occurrence in thyrotoxicosis of a gamma globulin which protects LATS from neutralization by an extract of thyroid gland. J Clin Endocrinol Metab 27:173-177
3. Adams DD, Kennedy TH (1971): Evidence to suggest that LATS-protector stimulates the human thyroid gland. J Clin Endocrinol Metab 33:47-51
4. Akamizu T, Ishii H, Mori T, Ishihara T, Ikekubo K, Imura H (1984): Abnormal thyrotropin-binding immunoglobulins in two patients with Graves' disease. J Clin Endocrinol Metab 59:240-245
5. Allan H, Fauchet R, Lorcy Y, Gueguen M, Le Guerrier A, Genetet B (1983): A prospective study of the relationship between relapse of hyperthyroid Graves' disease after antithyroid drugs and HLA Haplotyp. J Clin Endocrinol Metab 57:719-722
6. Amino N, Yuasa T, Yabu Y, Miyai K, Kumahara Y (1980): Exophthalmos in autoimmune thyroid disease. J Clin Endocrinol Metab 51:1232-1234
7. Atkinson S, Kendall-Taylor P (1981): The stimulation of thyroid hormone secretion in vitro by thyroid-stimulating antibodies. J Clin Endocrinol Metab 53:1263-1266
8. Atkinson S, McGregor AM, Kendall-Taylor P, Petersen MM, Smith BR (1982): Effect of radioiodine on stimulatory activity of Graves' immunoglobulins. Clin Endocrinol 16:537-543
9. Baker JR, Lukes YG, Burman KD (1984): Production, isolation and characterization of rabbit anti-idiotypic antibodies directed against human antithyrotropin receptor antibodies. J Clin Invest 74:488-495
10. Basedow von (1840): Exophthalmos durch Hypertrophie des Zellgewebes in der Augenhöhle. Wochenschr gesamt Heilkund 13:197-228

11. Bastomsky CH, McKenzie JM (1968): Interaction of thyrotropin and long-acting thyroid stimulator with theophyllin. *Endocrinology* 83:309-313
12. Beall GN, Kruger SR (1983): Binding of ¹²⁵I-human TSH by gamma globulins of sera containing thyroid-stimulating immunoglobulins. *Life Sci* 32:77-83
13. Bech K, Madsen SN (1978): Human thyroid adenylate cyclase in non-toxic goitre: Sensitivity to TSH, flouride and thyroid stimulating immunoglobulins. *Clin Endocrinol* 8:457-466
14. Bech K, Madsen SN (1979): Thyroid adenylate cyclase stimulating immunoglobulins in thyroid diseases. *Clin Endocrinol* 11:47-58
15. Bech K, Madsen SN (1980): Influence of treatment with radioiodine and propylthiouracil on thyroid stimulating immunoglobulins in Graves' disease. *Clin Endocrinol* 13:417-424
16. Bech K, Bliddal H, Siersbaek-Nielsen K, Friis K (1982): Production of non-stimulatory TSH receptor blocking immunoglobulins in Graves' disease after radioiodine administration. *Clin Endocrinol* 17:395-402
17. Bech K (1983): Immunological aspects of Graves' disease and importance of thyroid stimulating immunoglobulins. *Acta Endocrinol Suppl* 254
18. Becker W, Reiners C, Börner W (1983): Erste Ergebnisse mit einem Radiorezeptor-Assay (TRAK-Assay) zur Bestimmung von TSH-Rezeptor-Autoantikörpern. *Nuc Compact* 14:32-35
19. Becker W, Reiners C, Börner W (1983): Bestimmung schilddrüsenstimulierender Autoantikörper mit einem Radiorezeptor-assay (TRAK-assay). *Nuc Compact* 14:168-170
20. Berridge MJ, Irvine RF (1984): Inositol triphosphate, a novel second messenger in cellular signal transduction. *Nature* 312:315-321
21. Bidey SP, Marshall NJ, Ekins RP (1981): Adenylate cyclase activity and the accumulation and release of 3',5'-monophosphate in normal human thyroid tissue slice preparations: Responses to thyrotropin and thyroid-stimulating antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 53:246-253

22. Bidey SP, Marshall NJ, Ekins RP (1983): Bioassay of thyroid-stimulating immunoglobulins using human thyroid cell cultures: optimization and clinical assessment. *Clin Endocrinol* 18, 193-206
23. Bidey SP, Chiovato L, Day A, Turmaine M, Gould RP, Ekins RP, Marshall NJ (1984): Evaluation of the rat thyroid cell strain FRTL-5 as an in-vitro bioassay system for thyrotrophin. *J Endocrinol* 101:269-276
24. Bing RF, Rosenthal FD (1982): Early remission in thyrotoxicosis produced by short courses of treatment. *Acta Endocrinol* 100:221-223
25. Biro J (1982): Thyroid stimulating antibodies in Graves' disease and the effect of thyrotrophin-binding globulins on their determination. *J Endocrinol* 92:175-184
26. Bliddal H, Kirkegaard C, Siersbaek-Nielsen K, Friis T (1981): Prognostic value of thyrotrophin binding inhibiting immunoglobulins (TBII) in longterm antithyroid treatment, 131I therapy given in combination with carbimazole and in euthyroid ophthalmopathy. *Acta Endocrinol* 98:364-369
27. Bliddal H, Bech K, Petersen PH, Siersbaek-Nielsen K, Friis T (1982): Evidence of a correlation between thyrotrophin receptor binding inhibition and thyroid adenylate cyclase activation by immunoglobulins in Graves' disease before and during long-term antithyroid treatment. *Acta Endocrinol* 101:35-40
28. Bliddal H, Bech K, Kirkegaard C (1984): Thyroid stimulating immunoglobulins in patients in long-term remission after Graves' disease. *Horm Metabol Res* 16:602-605
29. Burton K (1968): Determination of DNA-concentration with diphenylamin. In: *Methods in Enzymology*, Vol.XII, Nucleic Acids. Part B, Grossman L, Moldave K (eds), New York.
30. Canonica GW, Bagnasco M, Cosulich ME, Torre G, McLachlan SM, Smith RR (1983): Why thyroid is the major site of thyroid autoantibody synthesis in autoimmune thyroid disease. *Lancet* 1983 i:1163
31. Carayon P, Adler G, Roulier R, Lissitzky S (1983): Heterogeneity of the Graves' immunoglobulins directed toward the

- thyrotropin receptor-adenylate cyclase system. *J Clin Endocrinol Metab* 56:1202-1208
32. Cooper DS (1984): Antithyroid drugs. *N Engl J Med* 311:1353-1362
 33. Cooper DS, Bode HH, Nath B, Saxe V, Maloof F, Ridgway EC (1984) Methimazole pharmacology in man: studies using a newly developed radioimmunoassay for methimazole. *J Clin Endocrinol Metab* 58:473-479
 34. Creagh F, Teece M, Williams S, Didcote S, Perkins W, Hashim F, Smith BR (1985): An analysis of thyrotrophin receptor binding and thyroid stimulating activities in a series of Graves' sera. *Clin Endocrinol* 23:395-404
 35. Dahlberg PA, Karlsson FA, Jansson R, Wide L (1985): Thyrotropin-releasing hormone testing during antithyroid drug treatment of Graves' disease as an indicator of remission. *J Clin Endocrinol Metab* 61:1100-1104
 36. Davies TF, Yeo PPB, Evered DC, Clark F, Smith BR, Hall R (1977): Value of thyroid-stimulating-antibody determinations in predicting short-term thyrotoxic relapse in Graves' disease. *Lancet* 1:1181-1182
 37. Davies TF (1981): Autoantibodies to the human thyrotropin receptor are not species specific. *J Clin Endocrinol Metab* 54:426-430
 38. Davies TF, de Bernardo E (1983): Thyroid autoantibodies and diseases: an overview. In: Autoimmune endocrine disease. TF Davies (ed). John Wiley & Sons, New York
 39. Docter R, Bos G, Visser TJ, Hennemann G (1980): Thyrotropin binding inhibiting immunoglobulins in Graves' disease before, during and after antithyroid therapy, and its relation to long-acting thyroid stimulator. *Clin Endocrinol* 12:143-153
 40. Ealey PA, Kohn LD, Elkins RP, Marshall NJ (1984): Characterization of monoclonal antibodies derived from lymphocytes from Graves' disease patients in a cytochemical bioassay for thyroid stimulators. *J Clin Endocrinol Metab* 58:909-914

41. Ealey PA, Valente WA, Ekins RP, Kohn LD, Marshall NJ (1985): Characterization of monoclonal antibodies raised against solubilized thyrotropin receptors in a cytochemical bioassay for thyroid stimulators. *Endocrinology* 116:124-131
42. Ehrlich P (1900): On autoimmunity with special references to cell life. *Proc R Soc Lond (Biol)* 66B:424-48
43. Ekins RP, Ellis SM (1975): The radioimmunoassay of free thyroid hormones in serum. In: Robbins J, Braverman LE (eds) *Thyroid Research*. Excerpta Medica, Amsterdam.
44. Empfehlungen der Sektion Schilddrüse der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie (1985). *Internistische Welt* 2/1985:47-57; 3/1985:78-86
45. Endo K, Kasagi K, Konishi J, Ikekubo K, Okuno T, Takeda Y, Mori T, Torizuka K (1978): Detection and properties of TSH-binding inhibitor immunoglobulins in patients with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 46:734-739
46. Etienne-Decerf J, Winand RJ (1981) A sensitive technique for determination of thyroid-stimulating immunoglobulins (TSI) in unfractionated serum. *Clin Endocrinol* 14:83-91
47. Fenzi G, Macchia E, Bartalena L, Mazzanti F, Baschieri L, DeGroot LJ (1978): Radioreceptorassay of TSH: its use to detect thyroid stimulating immunoglobulins. *J Endocrinol Invest* 1:17-24
48. Fenzi G, Hashizume K, Roudebush CP, DeGroot LJ (1979): Changes in thyroid-stimulating immunoglobulins during antithyroid therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 48:572-576
49. Finke R, Kotulla P, Wenzel B, Bogner U, Meinhold H, Schleusener H (1981): Klinische Bedeutung der Bestimmung von schilddrüsenstimulierenden Antikörpern. *Dtsch med Wschr* 106:38-42
50. Ginsberg J, Shewring G, Smith BR (1983): TSH receptor binding and thyroid stimulation by sera from patients with Graves' disease. *Clin Endocrinol* 19:305-311
51. Gossage AAR, Byfield PGH, Copping S, Himsworth RL (1981): A comparative study of the binding of Graves' immunoglobulins

- by the patient's own and other thyroid membranes. Clin Endocrinol 14:301-310
52. Gossage AAR, Crawley JCW, Copping S, Hinge D, Himsworth RL (1983): Thyroid function and immunological activity during and after medical treatment of Graves' disease. Clin Endocrinol 19:87-96
 53. Gossage AAR, Crawley JCW, Copping S, Hinge D, Himsworth RL (1983): Consistency and variability in the character of thyrotrophin receptor antibodies in Graves' disease. Clin Endocrinol 19:97-104
 54. Graves RJ (1835): Clinical Lectures. Lond Med Surg J 7:513-520
 55. Greer MA, Kammer H, Bouma DJ (1977): Short term antithyroid drug therapy for the thyrotoxicosis of Graves' disease. N Engl J Med 297:173-176
 56. Haraguchi K, Endo T, Onaya T (1986): Effects of phorbol esters on protein phosphorylation and free T3 release by mouse thyroid lobes. Acta Endocrinol 112:217-223
 57. Hardisty CA, Kendall-Taylor P, Atkinson S, Humphries H, Munro DS (1983): The assay of Graves' immunoglobulins: a comparison of different methods. Clin Endocrinol 18:637-644
 58. Harms V (1982): Biomathematik, Statistik und Dokumentation. Harms Verlag, Kiel
 59. Hensen J, Kotulla P, Finke R, Bogner U, Badenhoop K, Meinhold H, Schleusener H (1984): Methodological aspects and clinical results of an assay for thyroid stimulating antibodies (TSAb) - Correlation with thyrotropin binding inhibiting antibodies (TBIAb). J Clin Endocrinol Metab 58:980-987
 60. Hinds WE, Takai N, Rapoport B, Filetti S, Clark OH (1981): Thyroid-stimulating immunoglobulin bioassay using cultured human thyroid cells. J Clin Endocrinol Metab 52:1204-1210
 61. Hörmann R, Saller B, Moser E, Mann K (1985): TSH IRMA in thyroid autonomy. Lancet 8443:1455-1456
 62. Hörmann R, Müller R, Saller B, Mann K (1986): Similar triiodothyronine releasing activity of thyroid stimulating

- antibodies in human and porcine thyroid slices. *Horm Metab Res* 18:565-568
63. Holmes SD, Dirmikis SM, Martin TJ, Munro DS (1978): Effects of human thyroid-stimulating hormone and immunoglobulins on adenylate cyclase activity and the accumulation of cyclic AMP in human thyroid membranes and slices. *J Endocrinol* 79:121-130
 64. Islam MN, Pepper BM, Briones-Urbina R, Farid NR (1983): Biological activity of anti-thyrotropin anti-idiotypic antibody. *Eur J Immunol* 13:57-63
 65. Jansson R, Dahlberg PA, Johannsson H, Lindstrom B (1983): Intrathyroidal concentrations of methimazole in patients with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 57:129-132
 66. Jerne NK (1974): Towards a network therapy of the immune system. *Ann Immunol (Paris)* 125:373-376
 67. Kasagi K, Iida Y, Konishi J, Misaki T, Arai K, Endo K, Torizuka K, Kuma K (1986): Paired determination of thyroid-stimulating and TSH-binding inhibitory activities in patients with Graves' disease during antithyroid drug treatment. *Acta Endocrinol* 111:474-480
 68. Kendall-Taylor P, Knox AJ, Steel NR, Atkinson S (1984): Evidence that thyroid-stimulating antibody is produced in the thyroid gland. *Lancet* 1984 i:654-656
 69. Kendall-Taylor P, Atkinson S, Holcombe M (1984): A specific IgG in Graves' ophthalmopathy and its relation to retro-orbital and thyroid autoimmunity. *Br Med J* 288:1183-1186
 70. Kodama K, Sikorska H, Bandy-Dafoe P, Bayly R, Wall JR (1982): Demonstration of a circulating autoantibody against a soluble eye-muscle antigen in Graves' ophthalmopathy. *Lancet* 1982 ii:1353-1356
 71. Kohn LD, Valente WA, Laccetti P, Cohen JL, Aloj SM, Grollman EF (1983): Multicomponent structure of the thyrotropin receptor: Relationship to Graves' Disease. *Life Sci* 32:15-30
 72. Kotulla P, Schleusener H (1981): Solubilized TSH-receptor: its usefulness for the radioligand receptor assay for TSH and TSH-displacing antibody. *J Endocrinol Invest* 4:155-160

73. Kotulla P, Kostner C, Schleusener H (1983): Radioligand receptor assay for TSH and TSH-binding-inhibiting antibodies using solubilized TSH-receptor. *J Endocrinol Invest* 6:135-141
74. Kriss JP, Pleshakov V, Chien JR (1964): Isolation and identification of the long-acting thyroid stimulator and its relation to hyperthyroidism and circumscribed pretibial myxedema. *J Clin Endocrinol Metab* 24:1005-1028
75. Kuzuya N, Chiu SC, Ikeda H, Uchimura H, Ito K, Nagataki S (1979): Correlation between thyroid stimulators and 3,5,3'-triiodothyronine suppressibility in patients during treatment for hyperthyroidism with thionamide drugs: comparison of assays by thyroid stimulating and thyrotropin-displacing activities. *J Clin Endocrinol Metab* 48:706-711
76. Laurberg P, Week J (1975): T3 release from thyroid slices as an assay for thyroid stimulators. *Scand J Clin Lab Invest* 35:723-727
77. Laurberg P, Buchholtz Hansen PE, Iversen E, Jensen SE, Weeke J (1986): Goitre size and outcome of medical treatment of Graves disease. *Acta Endocrinol* 111:39-43
78. Levey GS, Pastan I (1970): Activation of thyroid adenylcyclase by long-acting thyroid stimulator. *Life Sci* 9:67-73
79. Macchia C, Fenzi GF, Monzani F, Lippi F, Vitti P, Grasso L, Bartalena L, Bascheri L, Pinchera A (1981): Comparison between thyroid stimulating and TSH-binding inhibiting immunoglobulins of Graves' disease. *Clin Endocrinol* 15:175-182
80. Madec AM, Laurent MC, Rostagnat-Stefanutti A, Allannic H, Orgiazzi J, Mornex R (1983): Thyroid stimulating antibody (TSAb) assay in whole serum using cultures of human thyroid cells. *Presse Medicale* 12:1849-1853
81. Madec AM, Laurent MC, Lorcy Y, Le Guerrier AM, Rostagnat-Stefanutti A, Orgiazzi J, Allannic H (1984): Thyroid stimulating antibodies: An aid to the strategy of Graves' disease? *Clin Endocrinol* 21: 247-255

82. Mac Neil S, Lakey T, Tomlinson S (1985): Calmodulin regulation of adenylate cyclase activity. *Cell Calcium* 6:213-226
83. Manley SW, Bourke JR, Hawker RW (1974): The thyrotrophin receptor in guinea-pig thyroid homogenate: Interaction with the long-acting thyroid stimulator. *J Endocrinol* 61:437-445
84. McGregor AM, Smith BR, Hall R (1980): Prediction of relapse in hyperthyroid Graves' disease. *Lancet* 1980 ii:1101-1103
85. McGregor AM, Petersen MM, McLachlan SM, Smith BR, Hall R (1980): Treatment and the autoimmune response in Graves' disease. *J Molec Med* 4:119-127
86. McGregor AM, Petersen MM, McLachlan SM, Rooke P, Smith BR, Hall R (1980): Carbimazole and the autoimmune response in Graves' disease. *N Engl J Med* 303:302-307
87. McKenzie JM (1958): The bioassay of thyrotropin in serum. *Endocrinology* 63:372-382
88. McKenzie JM, Williamson A (1966): Experience with the bioassay of the long-acting thyroid stimulator. *J Clin Endocrinol Metab* 26:518-526
89. McKenzie JM, Zakarija M (1976): A reconsideration of a thyroid-stimulating immunoglobulin as the cause of hyperthyroidism in Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 42:778-781
90. McKenzie JM, Zakarija M, Sato A (1978): Humoral immunity in Graves' disease. *Clinics Endocrinol Metab* 7:31-35
91. McLachlan SM, Pegg CAS, Atherton MC, Middleton SL, Clark F, Smith BR (1986): TSH receptor antibody synthesis by thyroid lymphocytes. *Clin Endocrinol* 24:223-230
92. Meek JC, Jones AE, Lewis UJ, Vaderlaan WP (1964): Characterization of the long-acting thyroid stimulator of Graves' disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 52:342-349
93. Mehdi SQ, Nussey SS (1975) A radio-ligand receptor assay for LATS - inhibition by the long-acting thyroid stimulator of the binding of radio-iodinated thyroidstimulating hormone to human thyroid membranes. *Biochem J* 145:105-111
94. Müller R (1985): Bioassay für schilddrüsen-stimulierende Antikörper: Methodenentwicklung und Vergleich zum Radio-

- rezeptorassay. Dissertationsschrift, Ludwig-Maximilians-Universität, München
95. Mukhtar ED, Smith BR, Pyle GA, Hall R, Vice P (1975): Relation of thyroid-stimulating immunoglobulins to thyroid function and effects of surgery, radioiodine, and anti-thyroid drugs. *Lancet* 1975 ii:713-715
 96. Nakai A, Nagasaka A, Hidaka H, Tanaka T, Ohyama T, Iwase K, Ohtani S, Shinoda S, Aono T, Masunaga R, Nakagawa H, Kataoka K (1986): Effect of calmodulin inhibitors on thyroid hormone secretion. *Endocrinology* 119:2279-2283
 97. Nishizuka Y (1984): The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumour promotion. *Nature* 308:693-698
 98. O'Donnell J, Trokoudes K, Silverberg J, Row V, Volpe R (1978): Thyrotropin displacement activity of serum immunoglobulins from patients with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 46:770-777
 99. Ollis CA, Davis R, Munro DS, Tomlinson S (1984): A role for intracellular calcium and calmodulin in the release of tri-iodothyronine from human thyroid cell monolayer cultures. *Bioscience Reports* 4:695-702
 100. Onaya T, Kotani M, Yamada T, Ochi Y (1973): New in vitro tests to detect the thyroid stimulator in sera from hyperthyroid patients by measuring colloid droplet formation and cyclic AMP in human thyroid slices. *J Clin Endocrinol Metab* 36:859-866
 101. Orgiazzi J, Williams DE, Chopra IJ, Salomon DH (1976): Human thyroid adenyl cyclase-stimulating activity in immunoglobulin G of patients with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 42:341-354
 102. Ozawa Y, Maciel RMB, Chopra IJ, Solomon DH, Beall GN (1979): Relationships among immunoglobulin markers in Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 48:381-387
 103. Parry CH (1825): Collections from the unpublished medical writings of the late. *Elem Pathol Ther* 2:111-128

104. Pastan I, Katzen R (1967): Activation of adenylyl cyclase in thyroid homogenates by thyroid-stimulating hormone. *Biochem Biophys Res Commun* 29:792-797
105. Petersen VB, Smith RB, Dawes PJD, Hall R (1977): The interaction of thyroid-stimulating antibodies with solubilised human thyrotrophin receptors. *FEBS Letters* 107:45-47
106. Pickardt CR (1984): Methoden zur Bestimmung schilddrüsen-stimulierender und -blockierender Antikörper. *Akt Endokr Stoffw* 5:94-98
107. Pinchera A, Fenzi GF, Macchia E, Bartalena L, Mariotti S, Monzani F (1982): Thyroid-stimulating immunoglobulins. *Horm Res* 16:317-328
108. Portman L, Hamada N, Heinrich G, DeGroot LJ (1985): Antithyroid peroxidase antibody in patients with autoimmune thyroid disease: possible identity with antimicrosomal antibody. *J Clin Endocrinol Metab* 61:1001-1003
109. Raines KB, Baker JR, Lukes YG, Wartofsky L, Burman KD (1985): Antithyrotropin antibodies in the sera of Graves' disease patients. *J Clin Endocrinol Metab* 61:217-222
110. Rapoport B, Filetti S, Takai N, Seto P, Halverson G (1982): Studies on cyclic AMP response to thyroid stimulating immunoglobulin (TSI) and thyrotropin (TSH) in human thyroid cell monolayers. *Metabolism* 31:1159-1167
111. Reynolds LR, Kotchen TA (1979): Antithyroid drugs and radioactive iodine: fifteen years' experience with Graves' disease. *Arch Intern Med* 139:651-653
112. Roitt IM, Doniach D, Campbell PN, Hudson RV (1956): Auto-antibodies in Hashimoto's disease (lymphadenoid goitre). *Lancet* 2:820-821
113. Roitt IM, Ling NR, Doniach D, Couchman KG (1964): The cytoplasmic auto-antigen of the human thyroid. I. Immunological and biochemical characteristics. *Immunology* 7:375-382
114. Romaldini JH, Bromberg N, Werner RS, Farah CS, Reis LCF (1983): Comparison of effects of high and low dosage regimens of antithyroid drugs in the management of Graves' hyperthyroidism *J Clin Endocrinol Metab* 57:563-570

115. Rose NR, Witebsky E (1956): Studies on organ specificity. V. Changes in the thyroid glands of rabbits following active immunization with rabbit thyroid extracts. *J Immunol* 76:417-427
116. Rotella CM, Zonefrati R, Toccafondi R, Valente WA, Kohn LD (1986): Ability of monoclonal antibodies to the thyrotropin receptor to increase collagen synthesis in human fibroblasts: an assay which appears to measure exophthalmogenic immunoglobulins in Graves' sera. *J Clin Endocrinol Metab* 62:357-367
117. Sachs L (1974): *Angewandte Statistik*. 4.Aufl. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
118. Scherbaum WA, Rosenau KO, Seif FJ (1979): Antikörper gegen Schilddrüsenmikrosomen und Thyreoglobulin beim M. Basedow und anderen Erkrankungen. *Med Welt* 30:1401-1406
119. Schifferdecker E, Schulz F, Schöffling K (1983): Erste Erfahrungen mit einem neuen Testbesteck zur Bestimmung von Antikörpern gegen den TSH-Rezeptor. *Akt Endokr Stoffw* 4:170-174
120. Schifferdecker E, Schulz F, Schöffling K (1986): Die Bestimmung von TSH-Rezeptor-Antikörpern - klinische Wertigkeit. *Klin Wochenschr* 64:8-14
121. Schleusener H, Kotulla P, Adlkofer F, Nussey SS, Mehdi SQ (1974): Clinical application of a radioreceptorassay for thyroid stimulators. *Endocrinol Exp* 8:226 (Abstract)
122. Schleusener H, Kotulla P, Finke R, Sörje H, Meinhold H, Adlkofer F, Wenzel KW (1978): Relationship between thyroid status and Graves' disease specific immunoglobulins. *J Clin Endocrinol Metab* 47:379-384
123. Schleusener H, Finke R, Kotulla P, Wenzel KW, Meinhold H, Roedler HD (1978): Determination of thyroid stimulating immunoglobulins (TSI) during the course of Graves' disease. A reliable indicator for remission and persistence of this disease? *J Endocrinol Invest* 2:155-161
124. Schleusener H, Hensen J, Finke R, Badenhoop K, Bogner U, Koppenhagen K, Kotulla P (1984): Klinische Aussagefähigkeit

- des Radioliganden-Rezeptor-Versuches für TSH-Rezeptor-Antikörper. *Akt Endokr Stoffw* 5:124-129
125. Seif FJ (1982): Schilddrüsenstimulierende Immunglobuline oder Antikörper: Vergleich mehrerer Bestimmungsmethoden. *Krankenhausarzt* 55:602-607
126. Seif FJ (1984): Klinische Bedeutung von Mikrosomen- und Thyreoglobulinantikörpern. *Akt Endokr Stoffw* 5:112-117
127. Shewring G, Smith BR (1982): An improved radioreceptor assay for TSH receptor antibodies. *Clin Endocrinol* 17:409-417
128. Smith BR, Hall R (1974): Thyroid-stimulating immunoglobulins in Graves' disease. *Lancet* 2:427-431
129. Smith BR (1981): Thyrotropin receptor antibodies. In: *Receptor regulation (Receptors and Recognition, Series B, Vol. 13)*. Edited by RJ Lefkowitz. Chapman & Hall, London
130. Solomon DH, Chopra IJ, Chopra U, Smith FJ (1977): Identification of subgroups of euthyroid Graves' ophthalmopathy. *N Engl J Med* 296:181-186
131. Sridama V, McCormick M, Kaplan EL, Fauchet R, DeGroot LJ (1984): Long-term follow-up study of compensated low-dose ¹³¹I therapy for Graves' disease. *N Engl J Med* 311:426-432
132. Sterling K, Milch PO (1974): Thermal inactivation of thyroxin-binding globulin for direct radioimmunoassay of triiodothyronin in serum. *J Clin Endocrinol Metab* 38:866-875
133. Stöckle G, Wahl R, Seif FJ (1981): Micromethod of human thyrocyte cultures for detection of thyroid stimulating antibodies and thyrotrophin. *Acta Endocrinol* 97:369-375
134. Strakosch CR, Joyner D, Manley SWW, Wall JR (1982): The species specificity of TSH receptor binding antibodies as measured by radioreceptor assay. *Clin Endocrinol* 17:173-179
135. Strakosch CR, Wenzel BE, Row VV, Volpe R (1982) Immunology of autoimmune thyroid diseases. *N Engl J Med* 307:1499-1507
136. Sugeno A, Kidd A, Row VV, Volpe R (1979): Correlation between thyrotropin-displacing activity and human thyroid-stimulating activity by immunoglobulins from patients with Graves' disease and other disorders. *J Clin Endocrinol Metab* 48:398-402

137. Takamatsu J, Sugawara M, Kuma K, Kobayashi A, Matsuzuka F, Mozai T, Hershman JM (1984): Ratio of serum triiodothyronine to thyroxine and the prognosis of triiodothyronine* predominant Graves' disease. *Ann Intern Med* 100:372-375
138. Takata I, Suzuki Y, Saida K, Sato T (1980): Human thyroid stimulating activity and clinical state in antithyroid treatment of juvenile Graves' disease. *Acta Endocrinol* 94:46-52
139. Tamai H, Nakagawa T, Fukino O, Ohsako N, Shinzato R, Suematsu H, Kuma K, Matsuzuka F, Nagataki S (1980): Thionamide therapy in Graves' disease: relation of relapse rate to duration of therapy. *Ann Intern Med* 92:488-490
140. Teng CS, Smith BR, Clayton B, Evered DC, Clark F, Hall R (1977): Thyroid-stimulating immunoglobulins in ophthalmic Graves' disease. *Acta Endocrinol* 94:46-52
141. Teng CS, Yeung RTT (1980): Changes in thyroid-stimulating antibody activity in Graves' disease treated with anti-thyroid drug and its relationship to relapse: A prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 50:144-147
142. Thorbecke GJ, Bhogal BS, Siskind GW (1984): Possible mechanisms for down-regulation of autoantibody production by auto-antiidiotype. *Immunol Today* 5:92-97
143. Toccafondi RS, Aterini S, Medici MA, Rotella CM, Tanini A, Zinefrati R (1980): Thyroid-stimulating antibody (TSAb) detected in sera of Graves' patients using human thyroid cell cultures. *Clin exp Immunol* 40:532-539
144. Töttermann TH, Karlsson FA, Bengtsson M, Mendel-Hartvig I (1987): Induction of circulating activated suppressor-like T cells by methimazole therapy for Graves' disease. *N Engl J Med* 316:15-22
145. Tomlinson S, Mac Neil S, Brown BL (1985): Calcium, cyclic AMP and hormone action. *Clin Endocrinol* 23:595-610
146. Uller RP, van Herle AJ, Chopra IJ (1973): Comparison of alterations in circulating thyroglobulin, triiodothyronine and thyroxin in response to exogenous (bovine) and endogenous (human) Thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 37:741-745

147. Valenta L, Eisenberg H, Meyes DM (1980): Concentration of thyroid hormones in thyroidal vein following TRH. Program of the 62nd Annual Meeting of the Endocrine Society, Washington 1980
148. Valente WA, Vitti P, Yavin Z, Yavin E, Rotella CM, Grollman EF, Toccafondi RS, Kohn LD (1982): Monoclonal antibodies to the thyrotropin receptor: stimulating and blocking antibodies derived from the lymphocytes of patients with Graves' disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:6680-6684
149. Vitti P, Rotella CM, Valente WA, Cohen J, Aloj SM, Laccetti P, Ambesi-Impimbato FS, Grollman EF, Pinchera A, Toccafondi R, Kohn LD (1983): Characterization of the optimal stimulatory effects of Graves' monoclonal and serum immunoglobulin G on adenosine 3',5'-monophosphate production in FRTL-5 thyroid cells: a potential clinical assay. *J Clin Endocrinol Metab* 57:782-791
150. Weetman AP, McGregor AM, Lazarus JH, Hall R (1982): Thyroid autoantibodies are produced by thyroid-derived lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 48:196-200
151. Weetman AP, McGregor AM, Hall R (1983): Methimazole inhibits thyroid antibody production by an action on accessory cells. *Clin Immunol Immunopathol* 28:39-45
152. Weetman AP, McGregor AM, Hall R (1984): Evidence for an effect of antithyroid drugs on the natural history of Graves' disease. *Clin Endocrinol* 21:163-172
153. Weetman AP, Gunn C, Hall R, McGregor AM (1984): The accumulation of (35S)methimazole by monocytes and macrophages. *Acta Endocrinol* 107:366-370
154. Weiss I, Davies TF (1981): Inhibition of immunoglobulin-secreting cells by antithyroid drugs. *J Clin Endocrinol Metab* 53:1223-1228
155. Werner SC (1977): Modification of the classification of the eye changes of Graves' disease. *Am J Ophthalmol* 83:725-727
156. Winand RJ, DeWolf M, Consiglio E, Kohn LD (1979): Autoimmunity, the thyrotropin receptor, and exophthalmos. In: Klein E, Horster FA (eds) *Autoimmunity in Thyroid Diseases*. Schattauer Verlag, Stuttgart and New York.

157. Zakarija M, McKenzie JM (1973): Effect of thyrotropin and of LATS on mouse thyroid cyclic AMP. *Metabolism* 22:1185-1191
158. Zakarija M, McKenzie JM (1978): Zoological specificity of human thyroid stimulating antibody. *J Clin Endocrinol Metab* 47:249-254
159. Zakarija M, McKenzie JM, Banovac K (1980): Clinical significance of assay of thyroid-stimulating antibody in Graves' disease. *Ann Intern Med* 93:28-32
160. Zakarija M (1980): The thyroid-stimulating antibody of Graves' disease: Evidence for restricted heterogeneity. *Horm Res* 13:1-15

7. Anhang

7.1. Geräte

Gewebemesser	Fa. Thomas, USA
Dialysiermembran	Nadir NG, Fa. Kalle, Deutschland
Wasserbad	Fa. Braun-Melsungen, Deutschland
Mikrotom	Fa. Mitutoyo, Japan
Teflontöpfchen	Spezialanfertigung, Laborwerkstätten, Klinikum Großhadern

7.2. Substanzen

Hepes	Fa. Serva, Deutschland
Cefotaxim	Fa. Höchst, Deutschland
Methimazol	Fa. Degussa Pharma Gruppe, Asta-Werke, Deutschland
Insulin	Actrapid, Fa. Novo, Deutschland
bovines TSH (30 IU/mg)	Dr. Pierce, Los Angeles, USA
übrige Substanzen	Fa. Merck, Deutschland

7.3. Lösungen

Puffer nach Earles:

13,60 g NaCl	2,00 g Gelatine
0,80 g KCl	2,00 g Glucose
0,53 g $\text{CaCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$	9,53 g Hepes
0,40 g MgSO_4	0,10 g Cefotaxim
0,25 g NaH_2PO_4	100 U Insulin
0,60 g NaHCO_3	

ad 1000 ml mit Aqua bidest. und mit NaOH auf pH 7,4 eingestellt

RIA-Puffer (1%):

0,2 g KH_2PO_4
1,5 g Na_2HPO_4 x 2 H_2O
10,0 g BSA
8,8 g NaCl
0,2 g NaN_3

ad 1000 ml mit Aqua bidest. und mit NaOH auf pH 7,5 eingestellt

7.4. Abkürzungen

bTSH :	bovines thyreotropes Hormon
cAMP :	zyklisches Adenosinmonophosphat
cpm :	counts / Minute
FT3 :	freies Trijodthyronin
LATS :	Long-acting thyroid stimulator
LATS-P :	Long-acting thyroid stimulator-Protector
M. Basedow :	Morbus Basedow
MG :	Molekulargewicht
n :	Anzahl der Fälle
n.s. :	nicht signifikant
p :	Irrtumswahrscheinlichkeit
r :	Spearman'scher Korrelationskoeffizient
RIA :	Radioimmunoassay
SD :	Standardabweichung
T3 :	Trijodthyronin
T4 :	Thyroxin
TBG :	Thyroxin-bindendes Globulin
TBI :	Thyroxin Bindungsindex
TBII :	TSH binding inhibiting immunoglobulin
TRH :	TSH-releasing Hormon
TSAb :	Thyroid stimulating antibody
TSH :	Thyreotropes Hormon
VK :	Variationskoeffizient
$\bar{x}$:	Mittelwert

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof.Dr.med. Gustav Paumgartner, an dessen Klinik ich die Möglichkeit hatte, diese Arbeit in den Jahren 1983 bis 1986 zu erstellen.

Besonders danken möchte ich Herrn Prof.Dr.med. Klaus Mann, auf dessen Anregung diese Arbeit entstanden ist. Seine freundliche Betreuung und die vielen anregenden Diskussionen, die diese Arbeit erst möglich gemacht haben, konnten bei mir darüberhinaus auch ein besonderes Interesse für wissenschaftliches Arbeiten wecken.

Herzlich danken möchte ich Herrn Dr.med. Rudolf Hörmann, mit dem ich alle Fragen und Probleme in freundschaftlicher Art besprechen konnte und der mir immer hilfreich zur Seite gestanden ist.

Nicht zuletzt gilt mein Dank Frau Gisela Reichel und allen anderen Mitarbeitern des endokrinologischen Forschungslabors für die gute und engagierte technische Hilfe und die freundliche Arbeitsatmosphäre.

Lebenslauf

Bernhard Josef S a l l e r

- geboren am 7. August 1961 in München als Sohn von Wiltrud Saller, geb. Feldmayer, Fachlehrerin und Dr. Manfred Saller, Oberstudiendirektor
- 1967 bis 1971: Besuch der Grundschule an der Werdenfelsstraße in München
- 1971 bis 1980: Besuch des städtischen Thomas-Mann-Gymnasiums in München
- 1980: Erlangung der allgemeinen Hochschulreife und Beginn des Medizinstudiums an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
- August 1982: ärztliche Vorprüfung
- Februar 1983: Anschluß an die Arbeitsgruppe von Herrn Prof. K. Mann und Herrn Dr. R. Hörmann an der Medizinischen Klinik II im Klinikum Großhadern und Beginn der Arbeit über Autoantikörper beim Morbus Basedow
- August 1983: erster Teil der ärztlichen Prüfung
- August 1985: zweiter Teil der ärztlichen Prüfung
- Oktober 1985 bis August 1986: praktisches Jahr
 - Medizinische Klinik II, Klinikum Großhadern
 - Chirurgische Abteilung, Stadtkrankenhaus Traunstein
 - Neurologische Klinik, Klinikum Großhadern
- November 1986: dritter Teil der ärztlichen Prüfung und Approbation als Arzt
- seit Januar 1987: Zivildienst im Klinikum Großhadern in München

Unpublished

Manuscript dated 1811

General note: The manuscript is written in the hand of the author, and contains a list of names and a list of places.

The first list of names is a list of names of the members of the family.

The second list of names is a list of names of the members of the family.

The third list of names is a list of names of the members of the family.

The fourth list of names is a list of names of the members of the family.

The fifth list of names is a list of names of the members of the family.

The sixth list of names is a list of names of the members of the family.

The seventh list of names is a list of names of the members of the family.

The eighth list of names is a list of names of the members of the family.

The ninth list of names is a list of names of the members of the family.

The tenth list of names is a list of names of the members of the family.

The eleventh list of names is a list of names of the members of the family.

The twelfth list of names is a list of names of the members of the family.

